

**Aus dem Pathologischen Institut
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Professor Dr. V. Becker)**

**Nekrosen in Pankreas und Testes von Ratten,
hervorgerufen durch Phospholipase A und Lysolecithin**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg**

**vorgelegt von
Peter Stömm~~er~~
aus Passau**

1977 ■ 3 65

Aus dem Pathologischen Institut
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg
(Direktor: Professor Dr. V. BECKER)

Nekrosen in Pankreas und Testes von Ratten,
hervorgerufen durch Phospholipase A und Lysolecithin

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen - Nürnberg

vorgelegt von

Peter STÖMMER
aus Passau

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Prof. Dr. V. Becker

Tag der mündlichen Prüfung: 03.11.1977

Meinen lieben Eltern gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548420_0014

Nekrosen in Pankreas von Testes und Ratten,
hervorgerufen durch Phospholipase A und Lysolecithin

Einleitung	8
Methode	
1. Versuche am Rattenhoden	12
2. Versuche am Rattenpankreas	15
3. Zusätzliche Versuche: Injektionen in die Rattenleber; Auswaschung von Farbstoffen aus Leber, Pankreas und Hoden	18
4. Material	20
Ergebnisse	
A	
1. Die Wirkung von Phospholipase A auf den Rattenhoden	22
2. Die Wirkung von Phospholipase A und Natrium-Tauroglycochololat auf den Rattenhoden	42
3. Die Wirkung von Lysolecithin auf den Rattenhoden	62
4. Die Wirkung von Natrium-Tauroglyco- chololat auf den Rattenhoden	75
5. Kontrollversuche am Hoden	80

B	1. Die Wirkung von Phospholipase A auf das Pankreas	81
	2. Die Wirkung von Phospholipase A und Natrium-Glycotaurocholol auf das Rattenpankreas	91
	3. Die Wirkung von Lysolecithin auf das Rattenpankreas	97
	4. Die Wirkung von Natrium-Tauroglyko- cholol auf das Rattenpankreas	105
	5. Kontrollversuche	109

Diskussion

1. Einleitung	110
2. Reinigung, Zusammensetzung und intrazelluläre Verteilung der Pankreas-Phospholipase A (EC 3.1.1.4)	116
3. Physikalisch-chemische Eigenschaf- ten der Pankreas- und Schlangengift- Phospholipasen	120
4. Pharmakodynamik des verwendeten Versuchsaufbaus	126
5. Die Versuche	
a) Wirkung von Phospholipase A und Lysolecithin auf Gewebe, Zellen und subzelluläre Partikel in vitro	136

c) Modifikation des Grundversuchs: 149

Injektion von Phospholipase A unter
Druck in den Ductus pancreaticus.

Injektion von Phospholipase A und 160
Lysolecithin in den Rattenhoden:
verminderte Ausschwemmung.

Erhöhung der Phospholipase-A-Akti-
vität durch Gallensalze

6. Die Bedeutung der Phospholipase A für 176
die Entstehung einer tryptischen
Pankreatitis

7. Stellung der Phospholipase-A-Pankrea- 186
titis zu anderen experimentellen
Pankreatitiden

Zusammenfassung

193

Literatur

197

Lebenslauf

Einleitung

Enzyme sind die Voraussetzung jedes Lebens. Sie ermöglichen Reaktionen, die ohne sie nicht oder nur in wesentlich längerer Zeit ablaufen würden. Ohne Enzyme gibt es keinen Stoffwechsel und damit kein Leben.

Bei der tryptischen Pankreatitis kehren sich die Fermente gegen den eigenen Organismus und zerstören ihn. Sie verdauen das Organ, von dem sie gebildet werden. Zahlreichen Enzymen wurde die beherrschende Rolle bei der Selbstzerstörung des Pankreas zuerkannt und wieder abgesprochen. Dabei rückte das Enzym P h o s p h o l i p a s e A in den letzten Jahren immer mehr in den Mittelpunkt der Pankreatitisforschung.

Dieses Ferment wird im menschlichen Pankreas in erheblicher Aktivität gebildet und führt Phospholipide in ihre sehr toxischen lyso-Verbindungen über. Bereits 1904 beschrieb DELEZENNE eine hämolytische Substanz, die durch die Aktivierung von Pankreassaft entsteht und Untersuchungen von BELFANTI (1924) zeigen die zytotoxische Wirkung

eines "Lysocithin" genannten Lysolecithins auf Erythrozyten und Leukozyten. Beide Autoren erkennen die "gewaltige Wirkung" dieser Substanz auf Zellen, bringen sie aber noch nicht mit der akuten, tryptischen Pankreatitis in Verbindung.

Dies war CREUTZFELDT u. Mitarb. (1966) vorbehalten. Seit ihrer ersten Mitteilung darüber sind zahlreiche Veröffentlichungen erschienen, die ebenfalls die Bedeutung der Phospholipase A für die Pathogenese der akuten tryptischen Pankreatitis hervorheben. Besonders erwähnenswerte Arbeiten wurden verfaßt von ANDERSON u. Mitarb. (1969); CREUTZFELDT u. Mitarb. (1966, 1970); GJONE u. Mitarb. (1967, 1969); HAGEN u. Mitarb. (1969); HASHIHARA u. Mitarb. (1971); PAPP u. Mitarb. (1973); SCHMIDT (1969, 1970); SCHMIDT u. Mitarb. (1967); WANKE u. Mitarb. (1968 a, b); WESTPHAL u. Mitarb. (1970). Übersichten finden sich bei BECKER (1973) und WANKE u. Mitarb. (1976). Die Verfasser dieser Artikel wiederholten und modifizierten die Grundversuche von CREUTZFELDT u. Mitarb. (1966), wobei sie ebenfalls Lösungen von Phospholipase A in den Ductus Wirsungianus von Versuchstieren instillierten und die Pankreaten nach unterschiedlich langer Zeit morphologisch oder biochemisch untersuchten.

Mit dieser Methode ist zwar festzustellen, ob durch eine intraductuläre Phospholipase-A-Instillation eine tryptische Pankreatitis ausgelöst werden kann; über die eigentliche Wirkung der Phospholipase A auf Gewebe und die Bedeutung der Phospholipase A für die Pathogenese der tryptischen Nekrose kann damit jedoch keine Aussage gemacht werden, weil der unmittelbare Effekt der Phospholipase A durch freigesetzte andere Enzyme sofort verfälscht wird. Es ist dann unmöglich, die Wirkung der Phospholipase A zu unterscheiden von jener, die durch die freigesetzten anderen Enzyme hervorgerufen wird. Damit entsteht ein schwer durchschaubares System von verschiedenen toxischen Prinzipien.

Ziel dieser Arbeit ist es deshalb, den Effekt von Phospholipase A und ihrem Reaktionsprodukt Lysolecithin auf lebendes Gewebe zu untersuchen. Um eine Nekrose eindeutig auf die Wirkung der Phospholipase A zurückführen zu können, ist es notwendig, sie in ein Gewebe zu injizieren, das selbst arm an proteo- und lipolytischen Enzymen ist. Damit wird sichergestellt, daß der Effekt der Injektion nur durch Phospholipase A oder ihre Reaktionsprodukte hervorgerufen wird und nicht etwa durch freigesetzte andere Enzyme aus nekrotischen Zellen. Wir führten deshalb unsere Versuche am Rattenhoden durch, da er die genannten Bedingungen

erfüllt und sich aus verschiedenen Gründen als Versuchsgewebe besonders eignet.

Wir vergleichen dann den Effekt von Phospholipase A auf den Hoden mit dem, der durch Instillation in den Pankreasgang entsteht. Wir untersuchen die Bedingungen, die notwendig sind, damit Phospholipase A Nekrosen erzeugt und den "Circulus vitiosus der akuten tryptischen Pankreatitis" (BECKER, 1973) in Gang bringt. Zuletzt zeigen wir an Hand der Literatur die Stellung der Phospholipase A zu anderen experimentellen Pankreatitiden, wie der Trypsin-Pankreatitis, der Komplement-Pankreatitis, der SHWARTZMAN-SANARELLI-Pankreatitis und der Immunpankreatitis.

Methoden

1. Versuche am Rattenhoden

Wir benützten für unsere Versuche männliche, ca. 200 g schwere Wistarratten, die kohlenhydratreich ernährt wurden. Futter und Wasser erhielten sie ad libitum. Für die Injektionen und Operationen wurden die Tiere mit Äther in einem geschlossenen System narkotisiert.

Bei unseren Versuchen injizierten wir 0,08 ml der unten näher beschriebenen Lösungen zentral in den Testis (Kanülenstärke No. 12). Nach 3, 24 oder, vereinzelt, 72 Stunden wurden die Hoden zusammen mit den Nebenhoden und dem damit verbundenen Fettkörper durch Eröffnung des Skrotums entnommen und sofort in Bouin'scher Lösung oder 10%iger Formalinlösung fixiert. Danach verschlossen wir das Skrotum in zwei Lagen.

Nach ungefähr zwei Tagen werden die gehärteten Hoden halbiert, um den makroskopischen Befund zu erheben. Die bei-

den Teile werden in Paraffin gebettet und mit den üblichen histologischen Methoden aufgearbeitet. Die 5 Mikrometer starken Schnitte werden mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt, vereinzelt auch mit PAS oder einer Trichromfärbung nach Masson-Goldner.

Die Versuchstiere sind in sechs Gruppen eingeteilt, entsprechend den sechs verschiedenen Lösungen, die in den Hoden eingebracht werden. In jeder dieser Gruppen wird der Effekt der Injektionen nach 3, 24 und, vereinzelt, 72 Stunden untersucht.

Gruppe 1: Die Tiere erhalten 12,5 U (25°C) Phospholipase A in 30%iger Glycerinlösung. Diese Konzentration ergibt sich durch Verdünnung der Phospholipase-A-Stammlösung.

Gruppe 2: Diese Tiere erhalten 12,5 U (25°C) Phospholipase A in 0,08 ml 30%iger Glycerinlösung mit einem Gehalt an Natrium-Glycotaurochololat von 0,75%.

Gruppe 3: Hier injizierten wir das Reaktionsprodukt der von Phospholipase A katalysierten Reaktion. Die Tiere erhalten 0,08 ml einer 2%igen Lysolecithinlösung in den Testis injiziert.

- Gruppe 4a: Die Ratten erhalten eine 0,75%ige Lösung von Natrium-Glycotaurocholeat (physiologische Mischung des Natriumsalzes von Glycocholeat und Taurocholeat).
- Gruppe 4b: Diese Tiere erhalten ebenfalls 0,08 ml einer Natrium-Glycotaurocholeatlösung, allerdings in 2%iger Konzentration.
- Gruppe 5: Kontrollversuche mit 0,08 ml einer 30%igen Glycerinlösung oder physiologischer Kochsalzlösung.

Zahl der Versuche in den einzelnen Gruppen:

	Versuchsdauer:	3 Std.	24 Std.	72 Std.
Gruppe 1:	Phospholipase A	5	9	
Gruppe 2:	Phospholipase A + Cholate	5	4	1
Gruppe 3:	Lysolecithin	5	3	1
Gruppe 4a:	Cholate, 0,75%	5	5	
Gruppe 4b:	Cholate, 2%	2	6	
Gruppe 5:	Kontrollen		9	

2. Versuche am Rattenpankreas

Um die Schädigung des Hodens mit jener des Pankreas nach der Einwirkung einer bestimmten Noxe zu vergleichen, injizierten wir ca. 0,11 ml der gleichen Lösungen wie bei den Versuchen am Hoden. Die Versuchstiere sind 200 g schwer und seit mindestens 6 Wochen kastriert.

Zur Instillation der verschiedenen Lösungen eröffnen wir das Abdomen der rasierten und narkotisierten Ratten durch einen Mittelschnitt. Die Linea alba wird gespalten und das unter dem Leberlappen liegende Duodenum, das bei Ratten sehr leicht mobilisierbar ist, wird zusammen mit dem Kopf des Pankreas vor die Bauchdecke geholt. Der Ductus pancreaticus, bei der Ratte zugleich der Ductus choledochus, ist als glasig-heller Strang deutlich sichtbar. Wir instillieren mit einer Spritze und Nadel Nr. 12 die verschiedenen Lösungen transduodenal in diesen Gang, ohne dabei den geringsten Druck anzuwenden. Danach wird die Papillenregion eine Minute lang vorsichtig zugehalten, um ein sofortiges Ausfließen der eingebrachten Lösung zu vermeiden. Danach wird der Darm unter die Leber zurückverlagert und die Bauchdecken in zwei Schichten wieder verschlossen (Methode modifiziert nach HEINKEL, 1953).

Nach der Operation erhalten die Tiere nur noch Flüssigkeit, um einen Reiz auf das Pankreas durch den Chymus zu vermeiden.

Nach 24 Stunden werden die Tiere in Äthernarkose getötet und das Pankreas sowie die übrigen inneren Organe entnommen. Das Pankreas wird mit den üblichen histologischen Methoden bearbeitet und mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt.

Wie bei den Versuchen an Rattenhoden werden die Tiere in fünf Gruppen aufgeteilt; der Effekt der Injektion wurde nur nach 24, nicht aber nach drei Stunden geprüft.

Gruppe 1: Bei den Tieren wurde 0,11 ml Phospholipase A mit der spezifischen Aktivität 125 U/ml (25°C) in einer 30%igen Glycerinlösung injiziert.

Gruppe 2: Ebenfalls 0,11 - 0,13 ml der gleichen Phospholipase-A-Lösung mit 0,75% Natrium-Glycotaurocholat.

Gruppe 3: Es wurden 0,12 ml einer 2%igen Lysolecithinlösung instilliert.

Gruppe 4: Diese Tiere erhielten 0,12 ml einer 0,75%igen Natrium-Glycotaurocholatlösung.

Gruppe 5: Kontrollversuche mit gleichen Volumen physiologischer Kochsalzlösung oder 30%iger Glycerinlösung.

Zahl der Versuche in den einzelnen Gruppen:

Pankreasversuche

Gruppe 1:	Phospholipase A	8 Tiere
Gruppe 2:	Phospholipase A + Cholate	6 Tiere
Gruppe 3:	Lysolecithin	9 Tiere
Gruppe 4:	Cholate 0,75%	6 Tiere
Gruppe 5:	Kontrollen	6 Tiere

3. Zusätzliche Versuche:

Injektionen in die Rattenleber, Auswaschung von
Farbstoffen aus Leber, Pankreas und Hoden.

Ausgehend von der Beobachtung, daß bei der tryptischen Pankreatitis und einer funktionellen Ausschaltung der Gallenblase Nekrosen in der Leber entstehen k ö n n e n , (BECKER, 1964 c) injizierten wir verschiedene Substanzen in die Leber.

Bei 20 Ratten wird teils perkutan nach der Methode von MENGHINI (1958), teils unter Sicht bei Laparatomie die Leber punktiert und unterschiedliche Mengen von Phospholipase A (0,05 ml bis 0,2 ml; 9 Tiere), Lysolecithin (0,1 ml einer 2%igen Lösung; 5 Tiere) oder Natrium-Glycotaurocholat (0,1 ml einer 0,7%igen oder 2%igen Lösung; 3 Tiere) injiziert. Nach ein, zwei oder mehr Tagen wurden sie durch Äthernarkose getötet, die inneren Organe in Formalin fixiert, in Paraffin gebettet und mit üblichen histologischen Verfahren aufgearbeitet.

Zahl der Versuche in den einzelnen Gruppen:

Versuche an der Rattenleber

Versuchsdauer:		24 Std.	48 Std.	länger
Injektat:	Phospholipase A	3	4	2
	Natrium-Glyco- taurocholat	1	1	2
	Lysolecithin	2	2	3

Bei unseren Versuchen zeigte sich, daß die Wirkung einer injizierten Substanz in der Leber unbedeutend, im Pankreas größer und in den Testes am ausgeprägtesten ist. Bei vier männlichen Ratten untersuchten wir deshalb die Verweildauer eines in die verschiedenen Organe eingebrachten Farbstoffes. Bei den laparatomierten Tieren wird 0,1 ml einer konzentrierten Azur-Eosin-Methylenblaulösung (GIEMSAs Lösung, D = 0,99; MERCK, Darmstadt, Best.Nr. 9204) simultan in einen Leberlappen, ins Pankreas und in die Testes injiziert. Durch makroskopische Beobachtung und photographische Dokumentation wird ihre Evasion aus dem Organ in den nächsten drei Stunden verfolgt. Schon nach 15 Minuten ist das dunkelblaue Injektat aus der Leber verschwunden und die normale Farbe des Organs zurückgekehrt, während beim Rattenhoden nach drei Stunden noch keinerlei Abnahme der Farbkonzentration festzustellen ist. Nach

sieben Tagen läßt sich noch immer eine Färbung des Hodengewebes beobachten (ein Versuchstier). Im Pankreas findet sich nach drei Stunden eine deutliche Konzentrationsabnahme des Farbstoffs.

4. Material

Wir verwendeten für unsere Versuche die Phospholipase-A - Stammlösung der Firma BOEHRINGER, Mannheim, die aus dem Gift von *Crotalus adamanteus* gewonnen wird und im Handel unter der Best.Nr. 15 057 erhältlich ist. Diese Lösung enthält 50% Glycerin und besitzt eine Aktivität von 200 U/ml bei 25°C. Nach Firmenangabe ist der pH ungefähr 6, das Wirkungsoptimum liegt bei pH 7 bis 8. Die Verunreinigung durch andere Enzyme ist kleiner als 0,1%. Die Substratspezifität scheint im wesentlichen mit jener der Pankreas-Phospholipase A₂ gleich zu sein (Firmenangabe).

Die 2%ige Lysolecithinlösung wurde mit lyophilisiertem Lysolecithin der Firma Carl ROTH, Karlsruhe, Lager-Nr. 2- 0762 hergestellt. Bei Temperaturen unter 4°C ist die Substanz stabil.

Natrium-Tauroglycocholats, ein physiologisch zusammengesetzter Gallensalzextrakt aus *Fel tauri*, besteht aus Natrium-Taurocholat und Natrium-Glycocholats und wird von der Firma Carl ROTH, Karlsruhe, unter der Lagernummer 2-8661 vertrieben. Für die Versuche wird davon eine 2%ige Lösung angesetzt, die entweder mit physiologischer Kochsalzlösung oder der Phospholipase-A-Stammlösung auf 0,75% verdünnt wird.

Die Wistarratten wurden dankenswerterweise von der Firma J. PFRIMMER u. Co., Pharmazeutische Werke, zur Verfügung gestellt.

Ergebnisse

Die Wirkung von Phospholipase A auf den Rattenhoden

1. Zeit von der Injektion bis zur Entnahme des Hodens:

3 Stunden

Präp.-Nr.: 50, 51, 52, 118, 119

Gruppe 1: Phospholipase A, Hoden, 3 Stunden

In der ersten Serie dieser Gruppe werden die Hoden drei Stunden nach der Injektion von 0,08 ml der Phospholipase-A-Lösung mit der Aktivität 12,5 U bei 25°C entnommen. Die Aktivität im Hoden dürfte größer sein, da die Temperatur wesentlich über 25°C liegt. Nach der allgemeinen Temperatur-Reaktionsgeschwindigkeitsregel von van't HOFF (1884) dürfte die echte Aktivität das Doppelte bis Dreifache betragen haben. Eine spezielle Temperatur-Reaktionsgeschwindigkeitskurve für Phospholipase A ist der Literatur bisher nicht zu entnehmen.

Beispiel: Ratte Nr. 25

Injektion von 0,08 ml Phospholipase-A-Lösung in den rechten Hoden des narkotisierten Tieres. Drei Stunden später Entnahme des Hodens. Man erkennt auf der glatten spiegelnden Tunica albuginea das Einstichloch der Injektion. Ein kurzes Stück eines Hodenkanälchens ist ausgetreten. Der Hoden scheint etwas geschwollen zu sein. Der makroskopische Befund am fixierten aufgeschnittenen Hoden ist, wie auch bei den anderen Tieren dieser Serie, gering. Die fädigen Kanälchen sind an der mutmaßlichen Stelle des Enzymdepots etwas auseinandergedrängt und eine Nuance dunkler, bedingt durch die Vasodilatation und eine geringe Einblutung.

Das mikroskopische Bild zeigt ihre größere Entfernung voneinander und in den Interstitien finden sich eosinophile faserige Fibrinnetze, besonders im Bereich um die Venolen (Abb. 2). Die nur ungenau erfaßbare Vergrößerung der Hoden nach der Injektion um $1/5$ bis $1/4$ der ursprünglichen Ausmaße dürfte nicht nur durch das injizierte Volumen, sondern auch durch diese Serumdialyse hervorgerufen sein. Die Kapillaren sind weit und strotzend hyperämisch. Durch sie und noch mehr durch die Venolen treten neutrophile Granulozyten in großer Zahl aus. Dadurch werden die Gefäßwände aufgelockert. Es finden sich Vakuolen in und neben den

platten Muskelzellen der Media (Abb. 3). Andere Gefäße zeigen nur Leukozyten im plasmatischen Randstrom.

Viele Granulozyten liegen perivasal in den Bindegewebszwickeln des Interstitiums. Sie schieben sich in die dünneren Stellen des Zwischengewebes vor, ohne dabei die Leydig'schen Zellen auseinander zu drängen. Auffällig ist ihr Verhalten gegenüber der Lamina propria der Tubuli; auch wenn sie bereits dicht liegen, so dringen sie doch nirgends in die Tubuli ein.

Seltener finden sich im Interstitium vakuolär degenerierende Zellen. Im Zytoplasma dieser großen Zellen sind dichte Vesikeln, die alle ungefähr gleich groß sind und von blasserer Eosinophilie wie das übrige Zytoplasma. Der Kern dieser Zellen besitzt große Ähnlichkeit mit jenem der Leydig'schen Zwischenzellen.

So deutlich eine Reaktion im Bereich des Interstitiums erkennbar ist, so wenig sind die Tubuli davon betroffen. Nach drei Stunden Einwirkungszeit zeigt sich, selbst in unmittelbarer Nähe der ausgetretenen Granulozyten, keine Reaktion. Die Schichten der tubulären Lamina propria sind nirgends voneinander gelöst. Man erkennt deutlich eine äußere und eine innere Membran, getrennt durch die Lage der Myoepithelien.

Das samenbildende Epithel ist an den meisten Stellen völlig regulär aufgebaut; die einzelne Zelle zeigt keine Reaktion. Insgesamt gesehen haben jedoch etliche Tubuli ihr Lumen verloren und sind mit Massen von Spermien, Spermischwänzen und eosinophilen kleinen Granula, den "residual-bodies", angefüllt. Vereinzelt findet sich eine Auflockerung des Intersertolizellraumes, wahrscheinlich als Fortsetzung des peritubulären Ödems in das Samenkanälchen (Abb. 4).

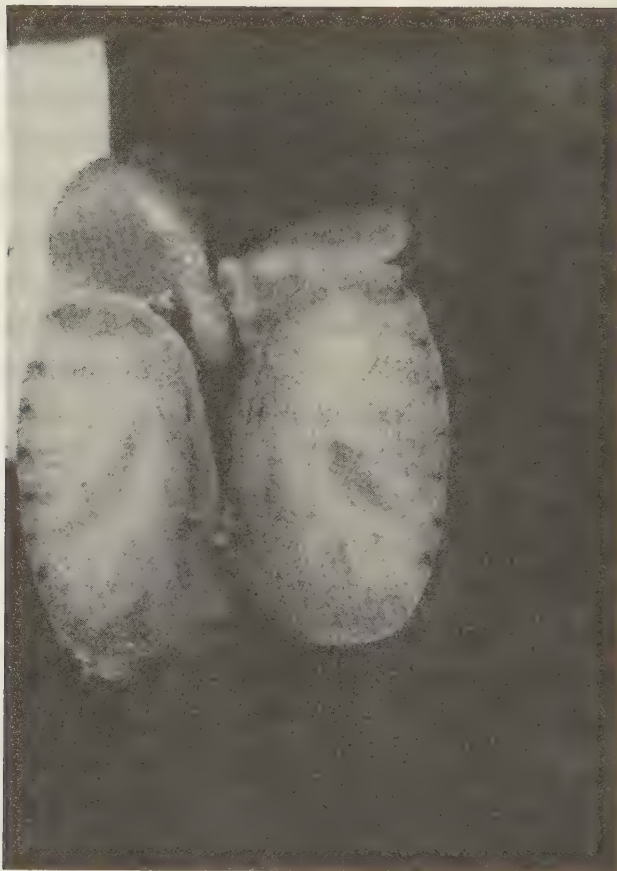


Abb. 1: Rattenhoden, drei Stunden nach der Injektion von Phospholipase A:
Geringe dunklere Verfärbung des Zentrums durch Hyperämie und
Einblutung.

Formalin, Makrophotogramm Vergr. 1 : 8,3

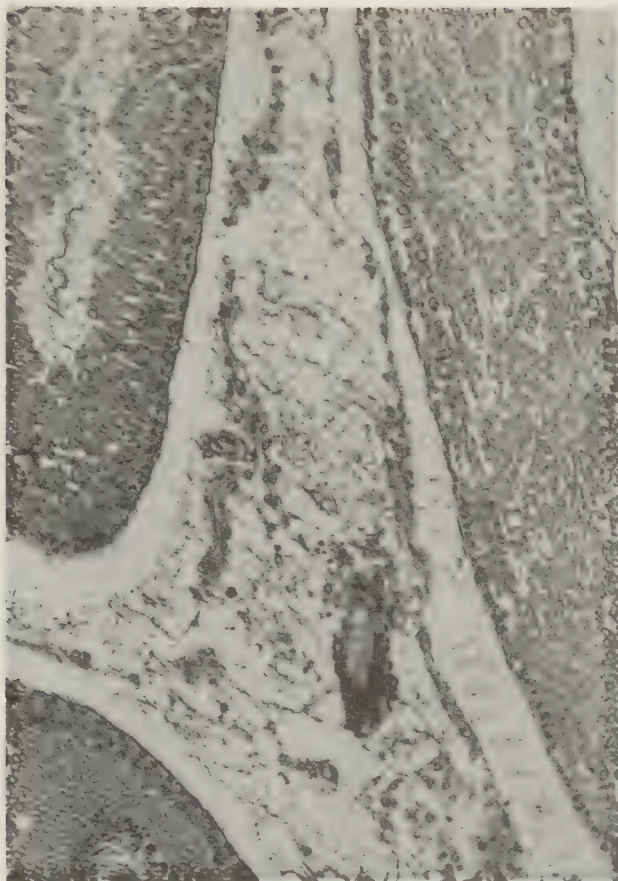


Abb 2 : Rattenhoden,drei Stunden nach der Injektion von Phospholipase A:
Ausgeprägtes Exsudat mit unterschiedlichem Eiweißsgehalt zwischen
den Tubuli,netzartige Ausfällung des Fibrins.Das Samenepithel ist
unverändert.
formalin,Paraffin,HE Mikrophotogramm Vergr. 1 : 180

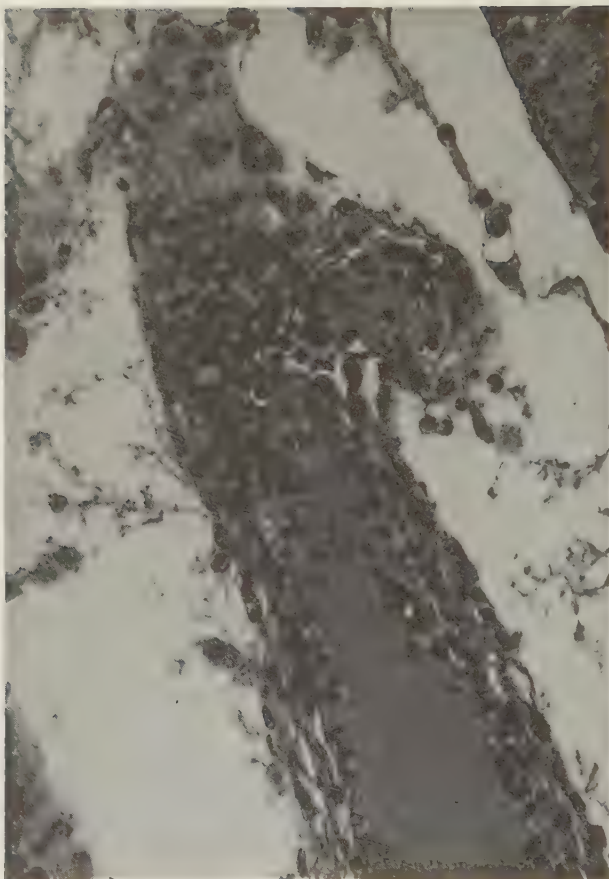


Abb. 3 : Rattenhoden, drei Stunden nach der Injektion von Phospholipase A
Hyperämisches Gefäß mit Austritt von Granulozyten durch die
Gefäßwand. Vakuolenbildung in der media. Fibrinniederschläge
im perivasalen Raum.
formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm, vergr. 1 : 650

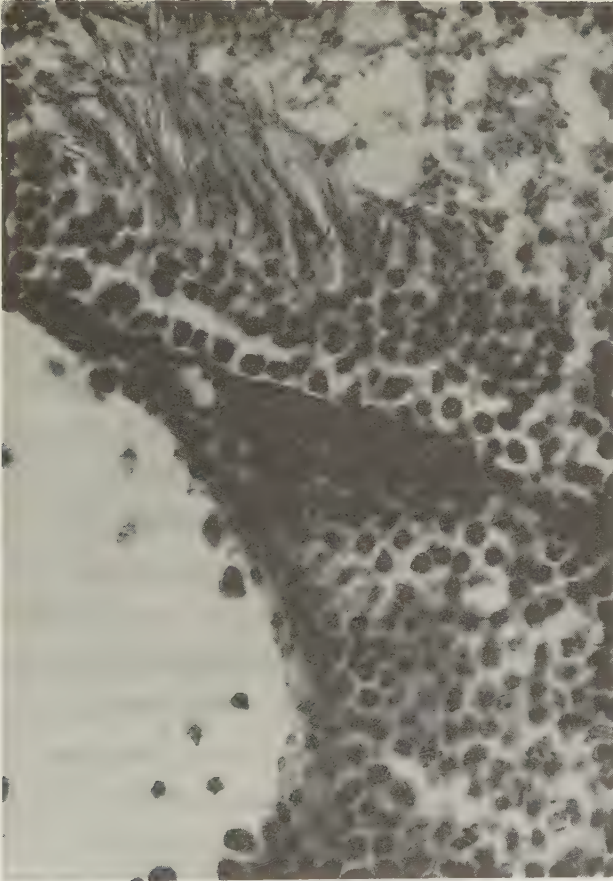


Abb. 4 : Rattenhoden, drei Stunden nach der Injektion von Phospholipase A:
Zentral eine Venole mit zahlreichen Granulozyten. Im Samen-
epithel eine beginnende Vakuolenbildung im Intersertelizell-
raum. Unveränderte Keimzellen.
Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm, Vergr. 1: 800

2. Zeit von der Injektion bis zur Entnahme des Hodens:

24 Stunden

Präp.-Nr.: 53, 59, 60, 121, 122, 127, 128, 188

Gruppe 1: Phospholipase A, Hoden, 24 Stunden

In der zweiten Serie dieser Gruppe werden die Hoden 24 Stunden nach der Injektion von 0,08 ml der Phospholipase-A-Lösung mit 12,5 U (25°C) entnommen. Rein rechnerisch ergibt sich, daß in dieser Zeit maximal 36 mmol Phospholipide gespalten werden können. Der echte Wert dürfte um etliche Zehnerpotenzen darunter liegen. Viel wichtiger erscheint die Tatsache, daß

1. mehr Zeit für die Einwirkung der Spaltprodukte auf den Hoden und
2. mehr Zeit für eine Reaktion des Hodens auf diese Noxen vorhanden ist. Die Zeit reicht für ein Sichtbarwerden der Nekrose - für die Nekrophaserose - aus. Sie tritt, abhängig vom jeweiligen Organ, ca. 8 Stunden nach dem Einsetzen der Schädigung auf (ZOLLINGER, 1948).

Beispiel: Tier Nr. 25

24 Stunden nach der Injektion von 0,08 ml Phospholipase-A-Lösung in den linken Hoden wird dieser durch Orchidektomie gewonnen. Er fühlt sich weich, matschig an, ein bläulicher Fleck schimmert durch die Tunica

albuginea. Beim Aufschneiden des fixierten Hodens erkennt man eine durch Blut, Fibrin und Nekrose deutlich dunkel verfärbte Stelle im Zentrum. Hier sind die Tubuli fester miteinander verbunden, verklebt und trotzdem im fixierten Zustand brüchig.

Die Ausdehnung der Nekrosen bei den übrigen Versuchen dieser Serie ist unterschiedlich in quantitativer Hinsicht. Qualitativ findet sich stets eine schwere Nekrose des gesamten Hodenparenchyms. Diese Nekrose ist scharf begrenzt, so daß eine Tubuluswand schwer geschädigt, die andere aber fast unverändert ist. Nekrose und normale Kanälchen liegen nur wenige Tubulusbreiten auseinander. Ihre Ausdehnung ist unterschiedlich, insgesamt aber kleiner als bei der Injektion einer Mischung von Phospholipase A und 0,75% Natrium-Glycotaurocholat.

Die Tubuli:

Das Keimepithel ist schwer geschädigt. Prä spermatiden und Spermatiden sind völlig verschwunden; nur blasse eosinophile Schatten, homogen und ohne einen Kernrest, sind von ihnen geblieben. Sie sind kugelig rund, unterschiedlich groß aufgequollen und liegen ins Tubuluslumen abgestoßen. Weniger stark geschädigte Prä spermatiden zeigen eine Homogenisierung des Karyoplasmas,

die Kerne werden dabei etwas eckig und verlieren ihre Basophilie. Sie werden braun und verblassen immer mehr, bis sie nicht mehr nachzuweisen sind. Bei am Rande der Nekrose noch erhaltenen Spermatiden finden sich im schwach eosinophilen Zytoplasma unterschiedlich große Vakuolen, besonders juxtanukleär. Sie haben eine unregelmäßige Gestalt. In einigen Zellen bleiben sie erhalten, selbst wenn die Kerne bereits geschwunden sind (Abb. 5).

Spermatozytenkerne zeigen ebenfalls eine Karyolyse. Als andere Ausdrucksform einer subletalen Schädigung bilden sie Plasmodien durch Verschmelzung zweier oder mehrerer Zellen. Selten aber haben diese Riesenzellen mehr als 3 bis 5 Kerne. Ihre Größe entspricht dem Zellvolumen der sie zusammensetzenden Zellen. Bei ihnen ist ab und an eine intranukleäre Wassereinlagerung zu sehen. Das Chromatin liegt dann zersplittert submembranös und entspricht der marginalen Chromatinkondensation (DAVID, 1970).

Die Spermatogonien sind wesentlich resistenter gegen die Einwirkung der Phospholipase A und des entstandenen Lysolecithins. Die Erscheinungsform ihres Todes ist auch anders: das Zytoplasma wird homogen, der Kern schrumpft, wird kompakt und schwarz; er verliert die

Strukturierung des Chromatins. Entweder wird er dann zackig und unregelmäßig in seinen äußeren Konturen, um schließlich durch eine Karyorhexis zu zerbröckeln, oder er wird völlig rund und ganz kompakt. Dann hebt sich seine Membran ab unter Ausbildung einer schwach basophilen Vakuole. Dies Gebilde scheint gegen die Trypsis resistent zu sein, denn es finden sich viele dieser Kerne ohne das dazugehörige Protoplasma in der Nekrose. Vereinzelt kommt es auch zur Riesenzellbildung, die selten mehr als drei der dunklen, pyknotischen Kerne haben (Abb. 8).

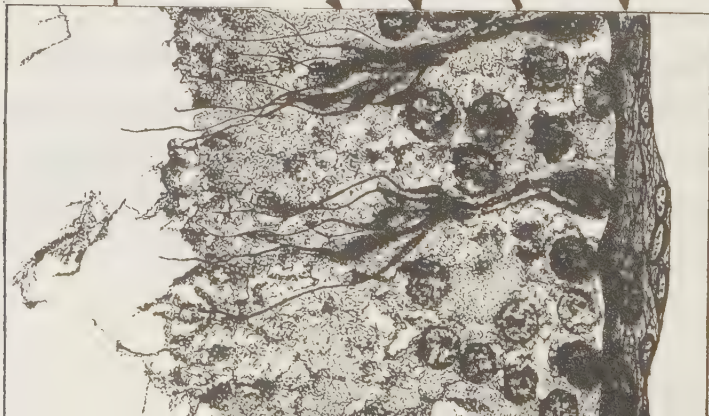
Die Sertoli-Stützzellen werden sehr rasch aufgelöst. Ihre Kerne verdämmern. Eine Riesenzellbildung ist nicht zu erkennen. Dies ist umso bemerkenswerter, weil Stützzellen gegen andere physikalische und chemische Noxen sehr resistent sind (BLOOM u. Mitarb., 1968).

Die Basalmembranen der Tubuli zeigen im Zentrum der Nekrose ganz vereinzelt noch einen überlebenden Myofibrozyten; die meisten sind nekrotisch, ihre Kerne als schwache Schatten erkennbar. Die Membranen sind verdünnt, aufgesplittert unter Ausbildung von breiten Zisternen. Meist sind es dabei mehr als die gewöhnlich sichtbaren zwei Membranen. Ihre Oberfläche ist rau.

Morphologische Veränderungen der Tubuli nach Phospholipase A -Einwirkung

Schwerster Schaden	mittlerer Schaden	geringer Schaden
Spermien werden aufgelöst	Spermienagglutination, Spermioophagen	
primäre Karyolyse	primäre Karyolyse, selten Karyopyknose	Riesenzellen mit 15-30 Kernen
primäre Karyolyse	Rhexis Karyopyknose Lysis Kernausstossung Vakuolen im Intersertolizellraum	Riesenzellen mit 2-3 Kernen Vakuolen im Intersertolizellraum
Aufspaltung und Torquierung der Membranen der Lamina propria, Karyolyse der Myoepithelien	Vakuolen in der Lamina propria	Vakuolen im Myoepithel
	Interstitielles Exsudat	Interstitielles Ödem, Exsudat.

am ungeschädigten Tubulus demonstriert

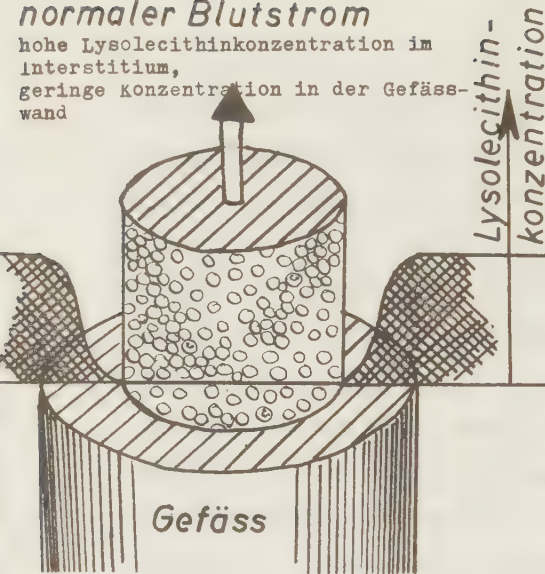


Die Interstitien:

Sie sind verbreitert und alle Zellen im Zentrum des Depots sind nekrotisch. Die größeren Gefäße sind verödet, die Erythrozyten haben sich aufgelöst. Endothel und Muskularis sind zerstört und nur noch als Schatten erkennbar. In den Arteriolen heben sich die Endothelzellen von der *Elastica interna* ab (Abb. 7). Einige dieser nekrobiotischen Gefäße führen Blut mit sehr viel Granulozyten. Wahrscheinlich werden die in das Gefäß eindiffundierenden toxischen Substanzen durch den Spülstrom des Blutes so verdünnt, daß Granulozyten und Erythrozyten nicht geschädigt werden. Die Wände des Gefäßes hingegen sind der vollen Konzentration der toxischen Substanzen ausgesetzt und werden deshalb nekrotisch. Erst wenn eine Stase des Blutstroms eintritt, fallen auch die Blutkörperchen einer Lysis anheim. Nachfolgendes Schema zeigt den (hypothetischen) Konzentrationsabfall toxischer Lysophosphatide von der Gewebskonzentration auf die Blutkonzentration (ungefähr Null). Das Diffusionsgefälle wirkt als treibende Kraft für den Einstrom toxischer Lyso-Phospholipide in den intravasalen Raum.

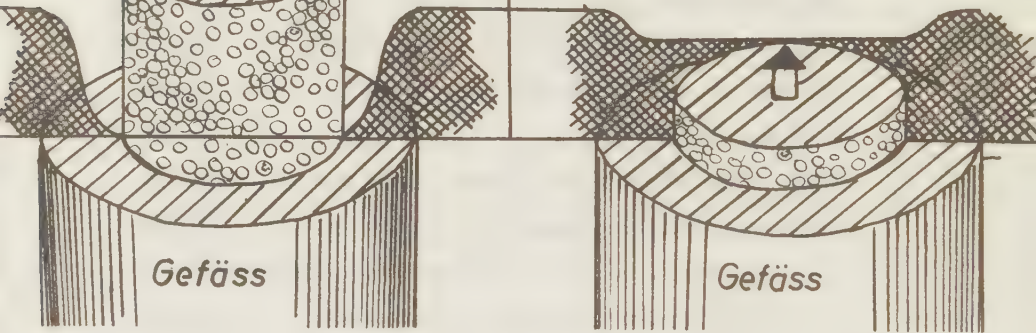
normaler Blutstrom

hohe Lysolecithinkonzentration im Interstitium,
geringe Konzentration in der Gefäßwand



Stase

Ausgleich der Lysolecithinkonzentration zwischen Interstitium und Gefäßwand und - lumen.



Kapillaren im Zentrum der Nekrose sind nicht mehr sicher als solche zu erkennen, in der Peripherie der Nekrose sind sie hyperämisch. Hier, wo auch die Leydig'schen Zwischenzellen wieder überleben, findet sich eine Plasma- und Leukozytendiapedese. Die Arterien-, und noch mehr die Venolenwände, zeigen eine Vakuolisierung.

Aus den Gefäßen treten zahlreiche Granulozyten aus, die, teils locker verstreut, teils in dichten Scharen im interstitiellen Bindegewebe oder dessen Resten liegen. An Stellen der schwersten Nekrose zerfallen sie (Abb. 5). Dazwischen sieht man eine unterschiedliche Zahl von

Histiozyten. Weiter peripher, wo die Interstitien mit eosinophilem Fibrin ausgegossen sind, findet man sie seltener. An einigen Stellen liegen die Granulozyten sehr dicht nebeneinander und dellen die Reste der Lamina propria ein. Aber weder hier noch an Stellen, wo sie weiter verstreut sind, überwinden sie die Schranke der tubulären Basalmembranen - auch wenn letztere völlig aufgesplittert und die Keimzellen tot sind. Hemmen die Basalmembranreste den Austritt von chemotaktisch wirksamen Stoffen der Nekrose (Mc CUTCHEON, 1946) oder bewirkt diese Nekrose (als tryptische - HARRIS, 1953) keine Chemotaxis? Bei anderen Präparaten war selbst nach 72 Stunden noch keine Immigration zu sehen.

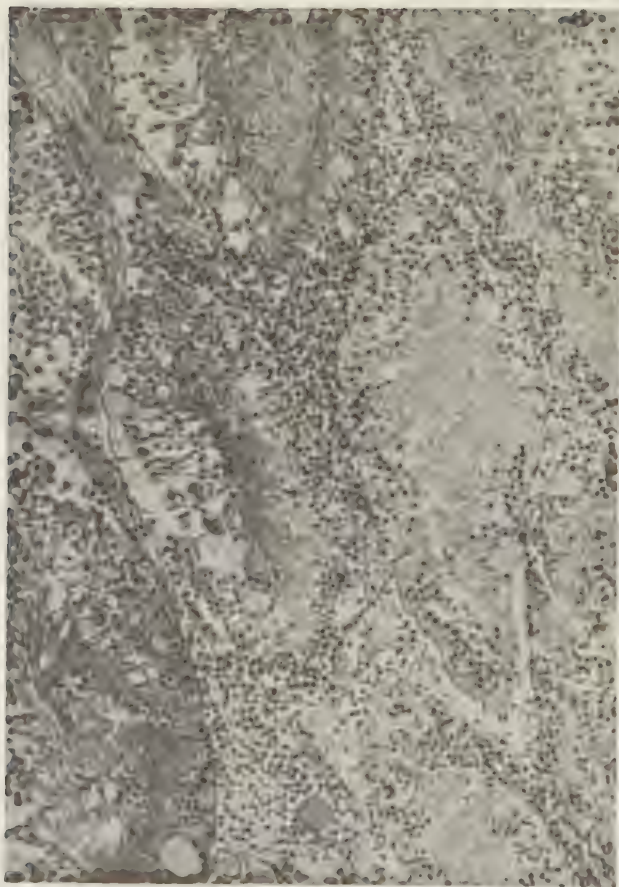


Abb. 5 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion von Phospholipase A:
scharf begrenzte Nekrose von Keimepithel und Interstitium.
Karyopyknose basaler Keimzellen, Karyolyse adluminaler Zellen.
Zerstörung des schichtenweisen Aufbaus des Keimepithels, Verlust
der interzellulären Verbindungen. Massive granulozytäre Infiltration
des Interstitiums ohne Überschreitung der tubulären Lamina
propria. Vakuolenbildung in nicht nekrotischen Tubuli.
Formalin, Paraffin, HE , Mikrophotogramm Vergr. 1 : 170

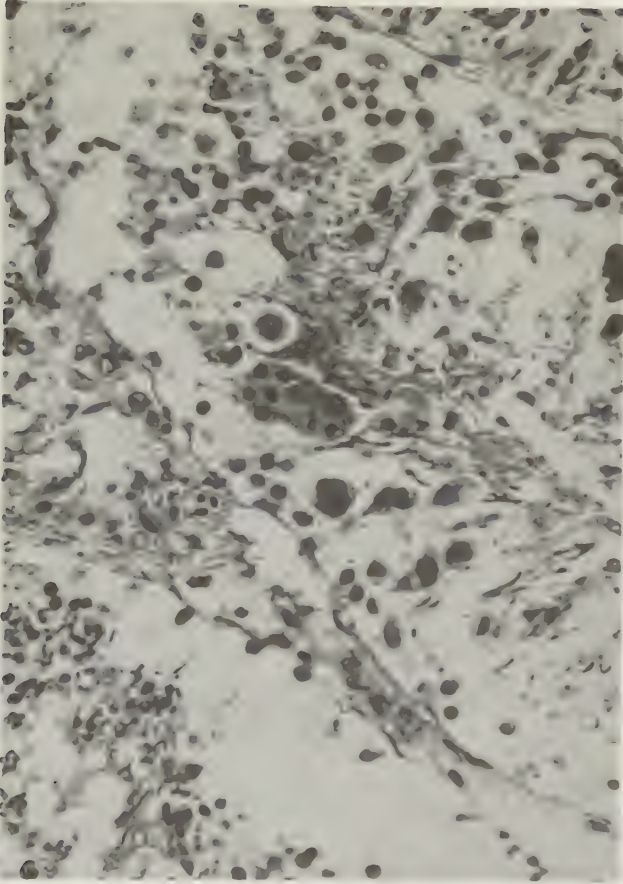


Abb. 6 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion von Phospholipase A:
gering geschädigte Tubuli. Ausbildung von Vakuolen, besonders im
Interstitium, Auflösung des interzellulären Zusammenhalts.
Zentral zwei Spermatogonienriesenzellen. Interstitium fibrinös
durchtränkt, intravasale Granulozyten.
Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm Vergr. 1: 450

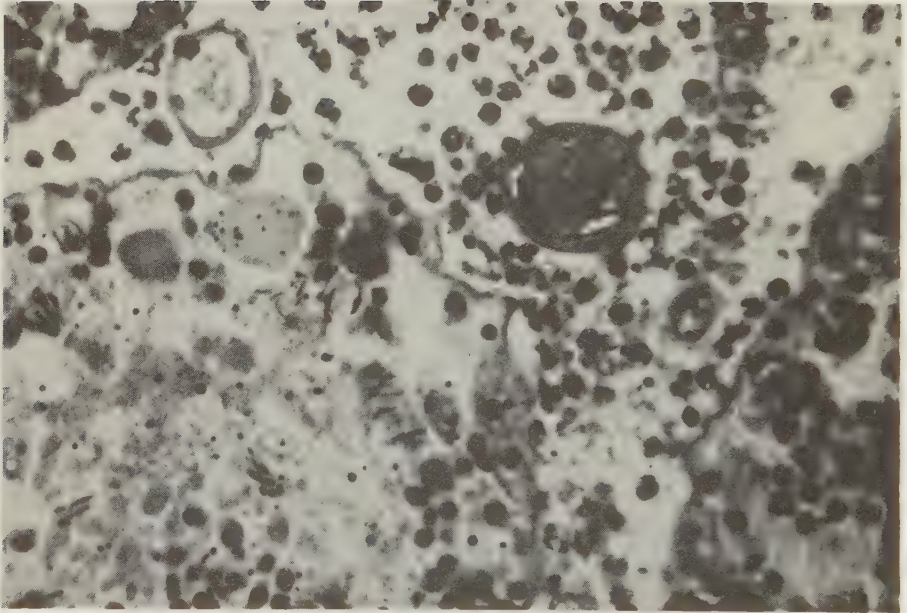


Abb. 7 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion von Phospholipase A: schwer geschädigter Tubulus seminiferus. Verlust des interzellulären Zusammenhalts der Keimepithelzellen, zahlreiche Karyopyknosen bei Spermatogonien, ausgestossene Kerne. Karyolyse von Präspematiden, verdämmernde Kerne. Spermien und einzelne Spermatiden bleiben erhalten. Basale Protoplasmaseen. Interstitium mit zahlreichen Granulozyten, die nirgends die aufgesplitterte Basalmembran überwinden. Gefäße z.T. verödet, Endothelzellen nekrotisch, im Lumen schollig zerfallende Erythrozyten.
Formalin, Paraaffin, HE, Mikrophotoramm Vergr. 1 : 360



Abb. 8 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion von Phospholipase A: schwere Schädigung. Karyo- und Zytolyse von Spermatocyten und weiter entwickelten Zellen. Spermatogonien zeigen Homogenisierung des Zytoplasmas und Karyopyknose. Nekrotische Sertoli-Zellen mit Auflösung von Zytoplasma und Kern. Nekrotisches Interstitium. Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm Vergr. 1 : 1080

Bereits drei Stunden nach der Injektion der Lösung zeigt sich makroskopisch beim Halbieren der fixierten Hoden eine verfärbte Stelle von matter, graurötlicher Farbe. Bei einigen Präparaten ist sie um eine Depothöhle sichtbar. Sonst erstreckt sie sich von der Mitte des Hodens bis zur Durchstichstelle in der Tunica albuginea. Die Tubuli haften an dieser Stelle wie verknäult zusammen (Abb. 9).

Der mikroskopische Befund ist durch eine deutliche Schädigungszone gekennzeichnet. Die Zeit für eine Nekrophanerose reicht offensichtlich noch nicht völlig aus. Sämtliche Kapillaren, Venolen und Arteriolen sind strotzend hyperämisch (Abb. 10). In ihrem plasmatischen Randstrom (Prästase?) finden sich viele Granulozyten. Einige sind wandadhärent. Der Inhalt mancher Kapillaren besteht fast ausschließlich aus Granulozyten, in anderen kleinen Gefäßen spannen sich Fibrinnetze zwischen schollig zerfallenden Erythrozyten aus. Einige Kapillaren werden nekrotisch.

Die Media größerer Gefäße und hier besonders die der Venen wird von Vakuolen in und neben den glatten Muskelfasern zerrissen. Das Endothel ist dabei gut erhalten. Zahlreiche gelapptkernige Leukozyten treten aus der Blutbahn ins Interstitium, das an einigen Stellen fibrinös durchtränkt ist. Granulozyten liegen im Inter-

stitiums, doch nirgends überschreiten sie die intakten Basalmembranen. In der Zone der mutmaßlich stärksten Wirkung sterben sie ab. Ihr Kern zerbröckelt.

In den Tubuli im Zentrum des Schadens liegt ein Exsudat mit feinstfibrillärer und granulärer Struktur. Teils füllt es das Lumen vollständig aus, meist aber, besonders in wenig geschädigten Samenkanälchen, bleibt es auf "Höhlen" in den äußersten Zellschichten beschränkt. Sie werden basal durch die Lamina propria begrenzt und lumenwärts durch Ausläufer der Sertoli-Zellen (Abb. 4, 5, 6, 10).

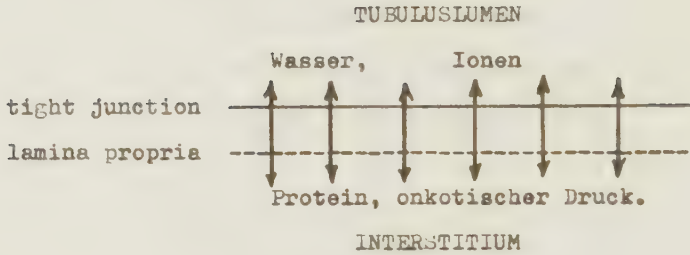
Diese Kompartimentierung des Samenepithels wurde bei physiologischen Verhältnissen untersucht. Es zeigte sich, daß die Schicht der Spermatogonien und präleptotänen Spermatozyten durch "tight junctions" zwischen den Sertoli-Zellen von den weiter entwickelten Zellen abgetrennt werden (NICANDER, 1967). Wie FARQUHAR u. Mitarb. (1963) nachwiesen, ist diese Membran zwar durchlässig für kleine Moleküle; große Moleküle, wie z.B. Fibrin, können jedoch nicht passieren.

Die Beschränkung eines Exsudats auf diesen Raum, der von FAWCETT (1975) "basal compartment", NICANDER (1967) "inter-Sertoli-space" und in dieser Arbeit Inter-sertolizell-Raum bezeichnet wird, wurde bislang nicht

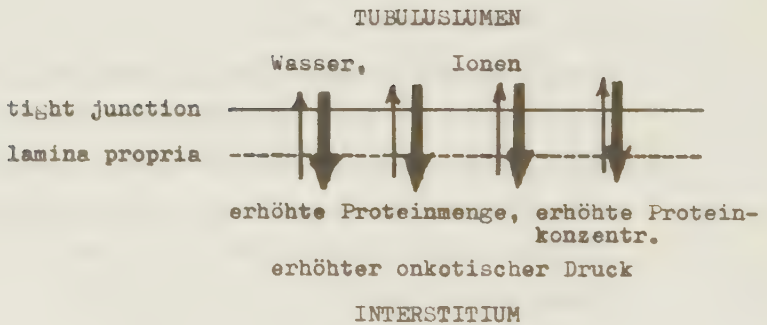
beschrieben. Aus den physikalischen Eigenschaften dieser flächenhaften "tight junction" als semipermeable Membran wird es verständlich, warum ein proteinreiches Odem oder Exsudat im Interstitium zu einer Aufnahme dieses Raums in das Tubuluslumen hinein erfolgen muß.

Der Inhalt des Tubulus ist isosmotisch mit dem Serum und unterscheidet sich nur durch einen höheren Kalium- und geringeren Natriumgehalt von diesem. Proteine sind nur in geringer Konzentration vorhanden (I); (VOGELMAYR u. Mitarb., 1967). Erhöht sich nun der Proteingehalt der interstitiellen Flüssigkeit durch ein entzündliches Exsudat, so wirkt sich der onkotische Druck der Flüssigkeit außerhalb der "tight junctions" gegenüber dem innerhalb dieser Membran aus (II); Gewebsflüssigkeit aus dem Tubulus strömt in den Raum vor der semipermeablen Membran und dehnt sie in das Tubuluslumen hinein aus (III).

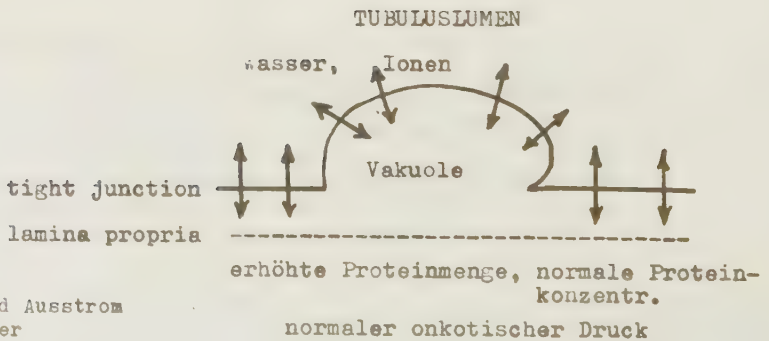
I)



II)



III)



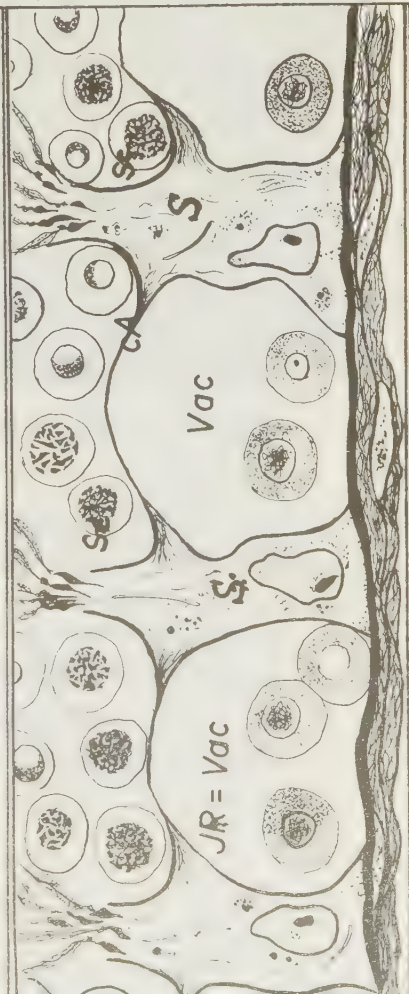
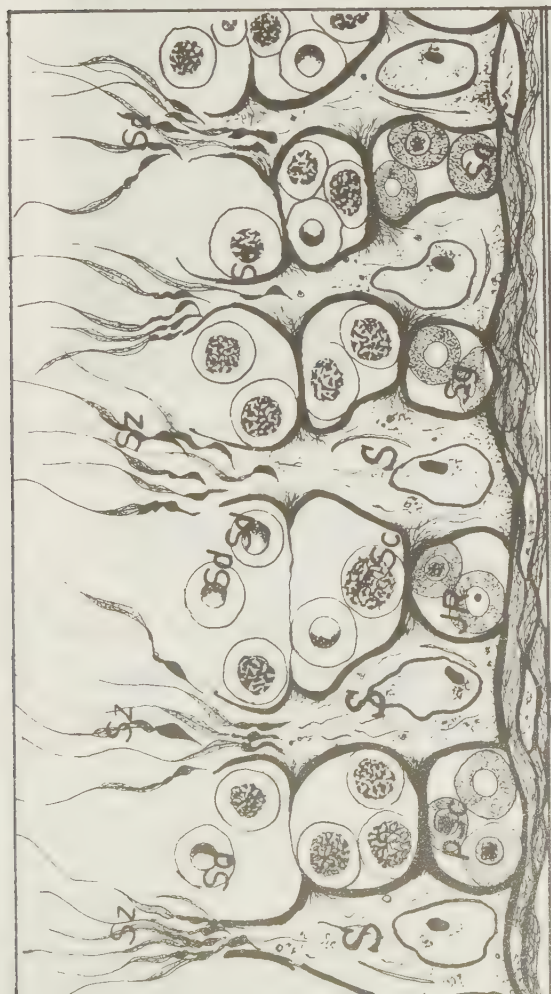
halbschematische Darstellung der
Intersertolizellräume

normaler Tubulus:

Spermatogonien (Sg) und präleptotäne
Spermatocyten (pSc) finden sich im
dichtanliegenden Intersertolizellraum
(IR), der durch die cytoplasmatischen
Ausläufer (CA) von Sertolizellen (S)
begrenzt wird.
Das adluminal Kompartiment enthält
postleptotäne Spermatocyten (Sc), Sper-
matiden (Sd) und Spermien (Sz).

geschädigter Tubulus:

In geschädigten Tubuli breitet sich
das interstitielle Exsudat bis in den
Intersertolizellraum aus und führt
zu dessen Ballonierung. Lichtmikro-
skopisch erscheinen diese aufgebläht-
ten Intersertolizellräume dann als
grosse Vakuolen (Vac).



Diese Vakuolen im Interseptell-Raum finden sich vor allem in gering- und mittelgradig geschädigten Tubuli; sie sind offensichtlich an eine intakte Membran-Funktion der "tight junctions" gebunden. Bei schweren Nekrosen fehlen sie vollständig. Nach der Nekrophanerose von Sertolizellen treten sie nicht mehr auf.

Daneben finden sich auch noch Vakuolen in der Zone über den Spermatozyten. Die Kerne der Spermatozyten sind sehr dunkel; Karyopyknose als Zeichen der Nekrose oder als letzte Anstrengung der Zelle zu überleben? Nur sie sitzen noch fest auf der Basalmembran. Das übrige Keimepithel beginnt sich abzuheben und den Zusammenhalt in sich zu verlieren. Die Zellen werden in das Tubuluslumen "geworfen". Ein unruhiges, wirres Bild entsteht im Zentrum der Nekrose (Nekrose als "zunächst noch unsichtbarer Zustand von Zellen, aus dem heraus sie kein Leben mehr gewinnen können" (MÜLLER, 1955) (Abb. 10). Außer diesen indirekten Beweisen einer Schädigung und dem vereinzelt Auftreten von Riesenzellen kann man nach 5 Stunden im Keimepithel noch keine eindeutig abgestorbenen Zellen nachweisen.

In der Peripherie liegt ein scharfer Übergang von Nekrose in (offensichtlich) gesundes, unverändertes Parenchym. Nur ein Tubulusdurchmesser trennt "deutlich gesund" von "deutlich krank".



Abb. 9 : Rattenhoden,drei Stunden nach der Injektion von
Phospholipase A und Na-Glycotaurocholat;durch Einblutung
und Exsudat dunkel verfärbtes Hodenparenchym.Verklebte
Samenkanälchen.
Formalin, Makrophoto, Vergrößerung 1 : 7,5

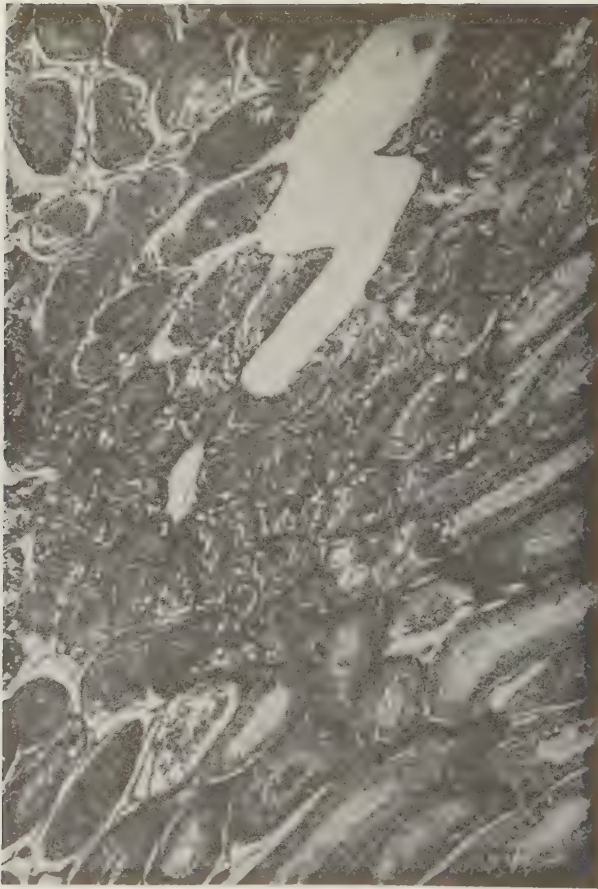


Abb. 10 : Rattenhoden, drei Stunden nach der Injektion einer Lösung aus Phospholipase A und Na-glycotaurocholat; Scharfe Grenze zwischen stark und nicht geschädigten Tubuli. Das Tubuluslumen geschädigter Samenkanälchen ist mit Keimepithelzellen aufgefüllt. Ausbildung basaler Vakuolen.

Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm Vergr. 1 : 60

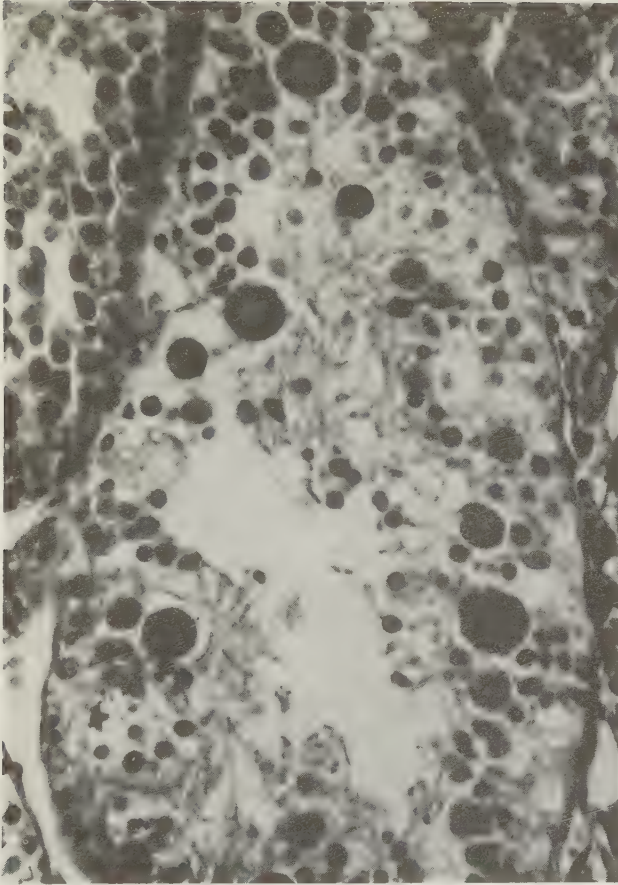


Abb. 11 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion einer Lösung aus Phospholipase A und Na-Glycotaurocholat. Gering geschädigter Tubulus mit zahlreichen Riesenzellen unterschiedlicher Kernzahl (2 bis 17 Kerne). Nur Spermatidenriesenzellen mit bläschenförmigen Kernen.
Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm, Vergr. 1:450



Abb. 12 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion von Phospholipase A
und Na-Glycotaurocholat. Riesenzellen vom Spermatocyten-Typ.
Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm Vergr. 1 : 3000

2. Zeit von der Injektion bis zur Entnahme des Hodens:

24 Stunden.

Präp.-Nr.: 61, 62, 63, 178.

Gruppe 2: Phospholipase A + Natrium-Tauroglycocholat,
Hoden, 24 Stunden.

In der zweiten Serie dieser Gruppe werden die Hoden 24 Stunden nach der Injektion von 0,08 ml Phospholipase-A - Lösung mit 12,5 U (25°C) und einer Na-Tauroglycocholat-konzentration von 0,75% entnommen.

Beispiel: Tier Nr. 72

Vierundzwanzig Stunden nach der Injektion wird der Hoden operativ gewonnen und sofort in Formalin fixiert. Im unfixierten Zustand fühlt er sich matschig weich an und eine bläuliche Nekrose schimmert durch die Tunica albuginea. Beim aufgeschnittenen, fixierten Hoden zeigt sich eine ziemlich feste Koagulationsnekrose von lehmig gelber Farbe. Sie nimmt ungefähr ein Zehntel der Schnittfläche ein. Mikroskopisch findet sich dann an entsprechender Stelle ein völliger Gewebsuntergang. Der Befund weicht nicht von jenem der übrigen Versuche der Serie ab.

Die Tubuli bestehen nur noch aus blaß-eosinophilen Zellschatten. Spermatozyten und besonders die weiter ausgereiften Zellen färben sich schwach eosinophil mit homogen-

milchigem Zytoplasma an, der Kern verdämmert; er wird braun, um sich dann immer mehr der Farbe des Zytoplasmas anzupassen. Seine äußere Gestalt wird unregelmäßig, die Kernmembran löst sich auf; vereinzelt bleiben noch Nucleolen erhalten. Andere Spermatozyten erfahren eine Karyorhexis mit Zerstäubung des Chromatins durch die ganze Zelle. Die wahrscheinlich diesem Stadium vorausgehende Kernwandhyperchromatose besteht offensichtlich nur so kurz, daß sie an wenigen Zellen zu beobachten ist.

Dagegen zeigen die Spermatogonien eine ausgeprägte Karyopyknose mit unterschiedlichen Verdichtungen und Vakuolen im unregelmäßig verzogenen Kern. Folgestadien sind entweder die Karyorhexis oder die Ausstoßung des kompakten Kerns, der dann irgendwo im Lumen des Kanälchens liegt.

In den schwerstgeschädigten Tubuli finden sich auch keine Spermien mehr. Nur ihre Schwänze sind noch als eosinophile, feinste Stränge zu erkennen. Der Rest der Tubuli ist mit Detritus ausgefüllt (Abb. 14).

Wenige der nekrotischen Kanälchen zeigen noch intratubuläre Ödem- und Exsudathöhlen. Der Intersertolizellraum ist mit feingranulärem Material ausgefüllt.

Die Lamina propria ist in mehrere Lamellen zersplittert, mit rauher Oberfläche und leichter Eosinophilie zwischen

den einzelnen Lagen. Die Myofibrozyten (BUSTOS-OBREGON u. Mitarb., 1973) in der Zwischenschicht sind kaum mehr zu sehen. Ihre Kerne sind schwache Schatten.

Im Interstitium zwischen den nekrotischen Tubuli findet sich ein unterschiedlich ausgeprägtes Ödem. Meist ist es fibrinös und die Fibrinfasern liegen spinnwebartig im Interstitium (Abb. 15). Weiter peripher ist das Interstitium mit homogenen, eosinroten Massen ausgegossen. Sämtliche Zellen des Interstitiums sind zerstört (Abb. 16).

Die Gefäße haben ihre Struktur nur noch in Umrissen behalten, manchmal erkennt man noch Reste von stark aufgetriebenen Zellen in ihren Wänden. Große Vakuolen liegen in der Media von Venolen. Die glatten Muskelzellen sind tot. Selten sieht man den Kern einer Endothelie. Ihr Lumen enthält ein feines Gespinnst von Fibrin und einzelne sehr stark abgeblaßte Erythrozyten, die meisten sind feinschollig zerfallen. Kapillaren sind ebenfalls zerstört, ihr Inhalt besteht fast nur aus niedergeschlagenen Fibrinflocken.

Weiter peripher finden sich dann Granulozyten, die sich immer streng an die Tubulusgrenzen haltend vom hyperämischen Randsaum aus die Nekrose betreten. Man findet sie an breiten und schmalen Stellen des Interstitiums.

Wie dicht sie liegen, scheint zwar von der Reaktionslage des einzelnen Versuchstieres abzuhängen, vor allem aber ist sie eine Funktion der Versuchsdauer. Bei einem Tier verstrichen zwischen der Injektion der Phospholipase-A - Natrium-Tauroglycocholat-Lösung und der Orchidektomie 72 Stunden. Hier finden wir ganz dichte Granulozytenwälle, die die einzelnen Tubuli voneinander trennen. Das Interstitium ist voll von Granulozyten, sie stehen sich gleichsam "auf den Füßen", doch nirgendwo brechen sie in Tubuli ein, obgleich deren Inhalt nur noch aus schwach eosinophilen, ausgelaugten Schatten besteht (Abb. 17).

Am Rande dieser Nekrose sind die Gefäße maximal erweitert. Sie beherrschen hier das Bild. Außerhalb dieses Gefäßkranzes finden sich "angeschlagene" Tubuli. Die Kerne des Samenepithels wirken schwerfällig, plump, ihr Zytoplasma ist basophiler, dunkler und geschwollen (Abb. 13).

In dieser Zone mit geschädigtem, aber nicht zerstörtem Keimepithel finden sich die wohlbekannten Riesenzellen (MAXIMOW, 1899), die durch Plasmodienbildung entstehen. Aus den Kernformen lassen sich Rückschlüsse auf die Ausgangszellen gewinnen. So finden sich, hier besonders häufig, Riesenzellen, die aus Spermatiden entstanden sind: sie zeigen die (bei der Ratte für Sperma-

tiden typischen) Kerne mit Ringstruktur. Durch Verschmelzung entstehen Zellen mit zwei, drei, vier, bis hin zu zwanzig und mehr Kernen. Die Kern-Plasmarelation wird dabei zuungunsten der Kerne verschoben. Der Quotient Zellvolumen zu Kernzahl steigt von 20 relativen Einheiten bei zwei Kernen auf über 60 bei mehr als acht Kernen (Messungen an Mikrophotographien; Abb. 11). Daneben liegen, allerdings in wesentlich geringerer Anzahl, Riesenzellen, die aus karyopyknotischen Spermato gonien oder Spermatozyten hervorgegangen sind. Ihre Kerne sind dunkel, voll und von unregelmäßiger Gestalt (Abb. 12, Abb. 6).

Vergleicht man die Wirkung der bei diesem Versuch benutzten Lösung mit der, die man durch Phospholipase A ohne weiteren Zusatz beobachtet, so erkennt man keinen qualitativen Unterschied. Quantitativ hingegen zeigt die Kombination des Enzyms mit einem Detergens eine Potenzierung der Wirkung, auch wenn dieses Detergens in der verwendeten Konzentration allein keine Schäden setzt.



Abb. 13 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion von Phospholipase A und Na-Glycotaurocholat: Ausgeprägte Nekrose von Tubuli seminiferi, scharfe Begrenzung gegenüber unverändertem Hodenparenchym.
formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm Vergr. 1 : 50

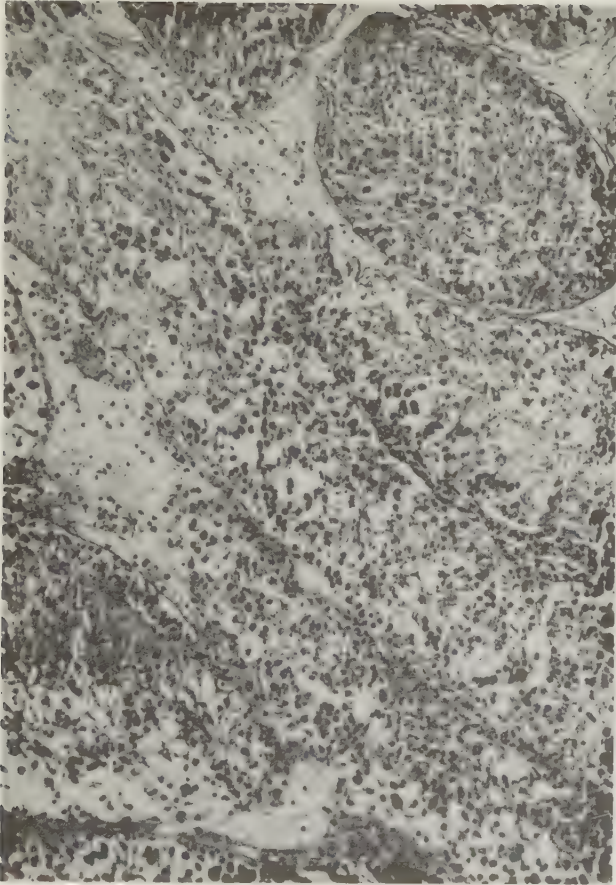


Abb. 14 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion von Phospholipase A und Na-Glycotaurocholat: Samenkanälchen aus dem Randgebiet der Nekrose. Aufsplitterung der Lamina propria, interstitielles Ödem, granulozytäre Infiltration des Interstitiums.
Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm Vergr. 1 : 180

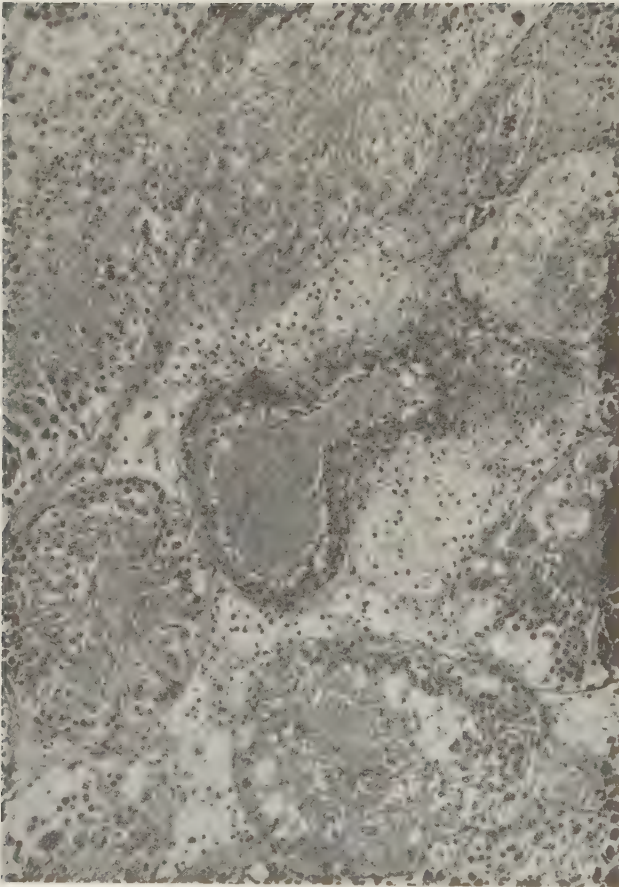


Abb. 15 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion von Phospholipase A und Na-Glycotaurocholat: unterschiedlich schwer geschädigte Tubuli im Randgebiet der Nekrose. Fibrindurchtränktes Interstitium, starker Austritt von Granulozyten aus einer grösseren Vene.

Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm Vergr. 1: 230

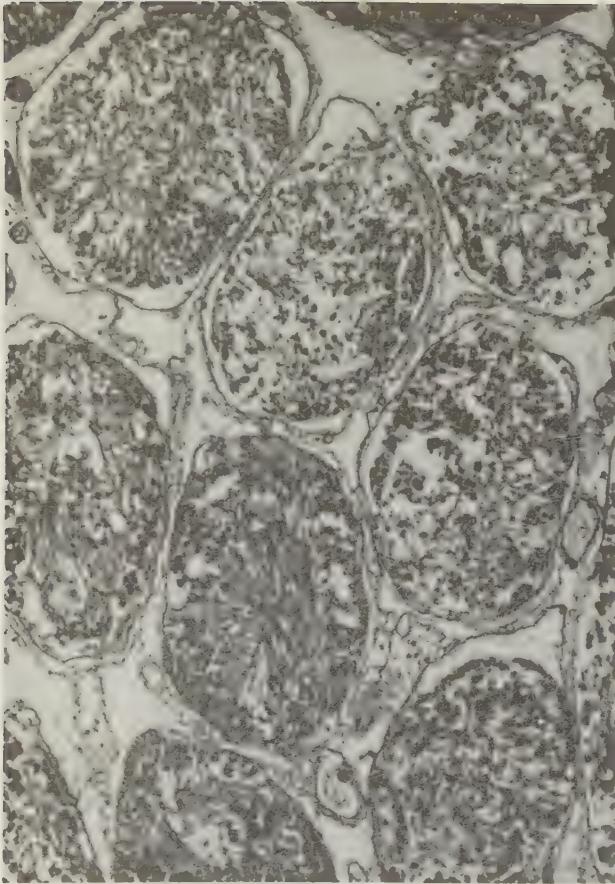


Abb. 16 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion von Phospholipase A und Na-Glycotaurocholat: Tubuli seminiferi mit nekrotischem Keimepithel. Ausgeprägtes interstitielles Ödem, aufgesplitterte, torzierte und vom Epithel abgehobene Lamina propria. Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm, vergr. 1: 250

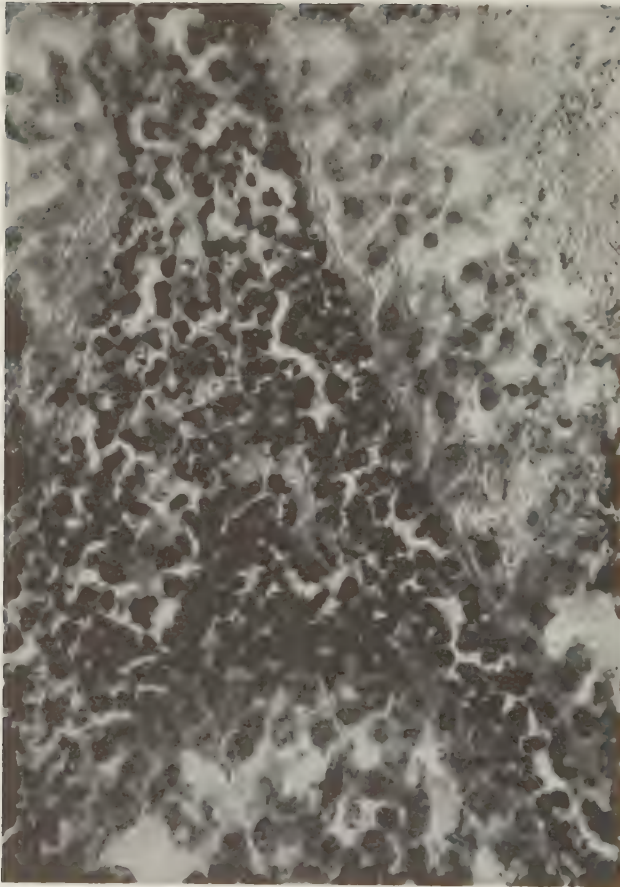


Abb. 17 : Rattenhoden, 72 Stunden nach der Injektion von Phospholipase A und Na-Glycotaurocholat: starke granulozytäre Infiltration des Interstitiums aber keine Invasion in die völlig nekrotischen Tubuli.

Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm, Vergr. 1:650

Die Wirkung von Lysolecithin auf den Rattenhoden

1. Zeit von der Injektion bis zur Entnahme des Hodens:
3 Stunden.

Präp.-Nr.: 68, 69, 70, 124.

Gruppe 3: Lysolecithin, Hoden, 3 Stunden.

In fünf Hoden werden die 0,08 ml einer 2%igen Lysolecithinlösung injiziert; nach 3 Stunden werden die Testes entnommen. Im unfixierten Zustand sieht man äußerlich keinerlei Veränderungen. Einige Hoden dieser Serie fühlen sich härter als vor der Injektion an.

Die Schnittflächen der fixierten Hoden zeigen eine ausgedehnte Parenchymschädigung. Sie ist von dunklerer Farbe wie die Umgebung und erstreckt sich vom Zentrum bis an die Kapsel des Hodens. Das fixierte Gewebe ist hier besonders hart, die sonst fädigen Tubuli sind verklebt und verknäuelte (Abb. 18).

Das mikroskopische Bild zeigt, wie bei den Versuchen mit Phospholipase A und Na-Tauroglycocholat, Granulozyten in großer Zahl aus den Gefäßen austreten und in die interstitiellen Dreiecke einwandern. Von dort aus schieben sie sich in die schmalen Stellen des Interstitiums. Nirgends brechen sie in die Kanälchen ein und die Leydig'schen

Zellen lassen sie völlig unberührt. Besonders an der Peripherie der Nekrose, aber auch noch weiter entfernt vom Lysolecithin-Depot, sind die Gefäße weit (perifokale Hyperämie) und werden von Granulozyten durchwandert. Ihre Media zeigt Vakuolen in und neben den glatten Muskelzellen. Oft findet sich ein eiweißreiches Ödem im Interstitium. Die Leydig'schen Zellen sind geschwollen. Die Basalmembranen der Tubuli werden durch das Lysolecithin angegriffen. Sie zeigen Verformungen, ihre Oberfläche ist stärker gefältelt und sie zersplittert in mehrere Schichten.

Im Keimepithel sind keine definitiv nekrotischen Zellen zu sehen. Die Zeit für eine Nekrophanerose ist zu kurz. Spermatogonienkerne sind verdichtet, die Kerne der Spermatozyten sind vergrößert im Sinne einer Kernschwellung. Vereinzelt Spermatiden-Riesenzellen liegen im Lumen (Abb. 20).

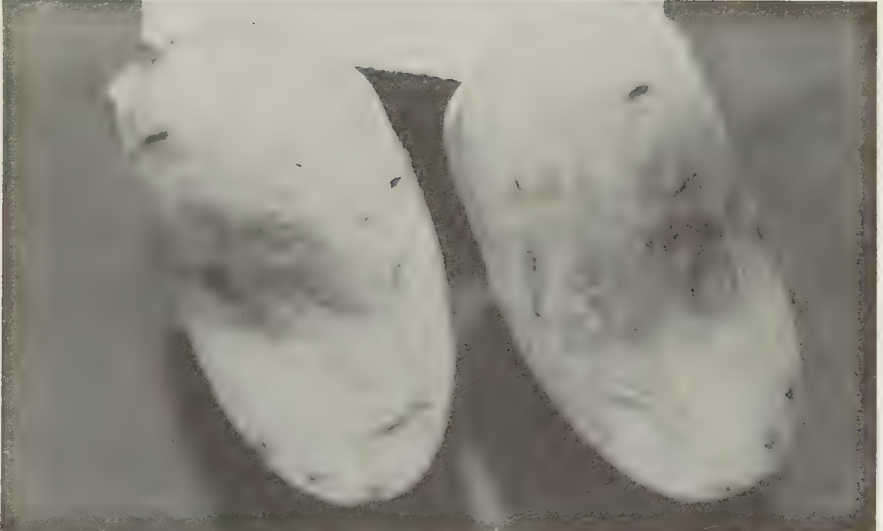


Abb. 18: Rattenhoden, drei Stunden nach der Injektion einer 2%-igen
Lysolecithinlösung: Durch Fibrin, Einblutung und Hyperämie
bei beginnender Nekrose dunkel verfärbtes Gewebe.
Formalin, Makrophotogramm, Vergr. 1: 10



Abb. 19 : Fledermausnieren, drei Stunden nach der Injektion einer
Lysolecithinlösung; aufgefülltes tubulussystem durch
abschwimmendes Keimepithel, Hyperämie.
Formalin, Paraffin, SE, Mikrophotogramm vergr. 1 : 50

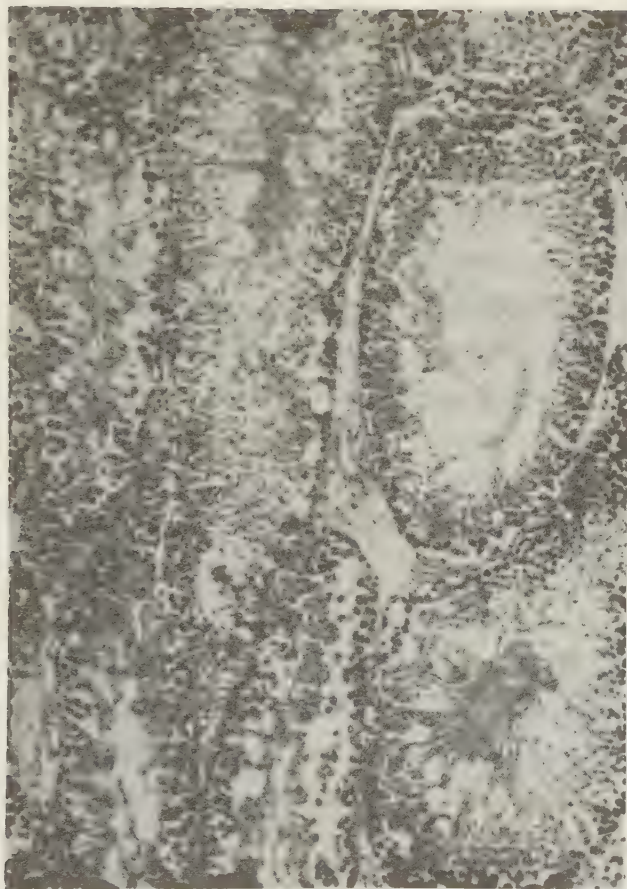


Abb. 20 : Rattenhoden, drei Stunden nach der Injektion einer Lysolecithinlösung. Ausbildung von Vakuolen im Keimepithel. Keine Nekrophanerose.
Formalin, Paraffin, Haemalaun-Eosin, Mikrophotogramm Vergr. 1:225

2. Zeit von der Injektion bis zur Entnahme des Hodens:

24 Stunden

Präp.-Nr.: 35, 46, 48, 71

Gruppe 3: Lysolecithin, Hoden, 24 Stunden

Die Nekrosen in den vier Hoden dieser Serie, die 24 Stunden nach der Injektion von 0,08 ml einer 2%igen Lysolecithinlösung auftreten, sind so gleichartig, daß die allgemein gültigen Befunde am Beispiel des Tieres Nr. 35 dargestellt werden.

Beispiel: Ratte Nr. 35

Einen Tag nach der Injektion der Lysolecithinlösung in den rechten Hoden wird dieser durch Orchidektomie entnommen. Er ist etwas vergrößert und fühlt sich sehr weich an. An einer Stelle schimmert ein verfärbtes Gewebe durch die Tunica albuginea, die selbst spiegelnd glatt ist.

Der fixierte Hoden zeigt eine zentrale Nekrosehöhle, die sich um den zentralen Injektionsort des Lysolecithins gebildet hat. Sie nimmt ungefähr ein Zwanzigstel der Schnittfläche ein. Ihre Wände sind unscharf begrenzt und rauh; nur wenig Fibrin bedeckt die in diese Höhle vorstehenden Tubulusstümpfe (Abb. 21).

Hier ist das Samenepithel schwer geschädigt. Alle Zellarten ohne Ausnahme sind nekrotisch und sogar die Kerne der Spermatogonien haben sich aufgelöst. Nur schwach eosinophile Zelleichen erfüllen das Lumen des Tubulus. Die Lamina propria ist aufgesplittert, die innerste Schicht ist vielfach torquiert und wellig. Trotzdem verwehrt sie den Granulozyten den Eintritt ins Innere des toten Hodenkanälchens (Abb. 23, 24).

Weiter peripher, wo die Konzentration des Lysolecithins offensichtlich nicht so groß war, tritt der gleiche Nekrosetyp hervor wie bei den Versuchen mit Phospholipase A allein oder zusammen mit Natrium-Tauroglycholat: dabei zeigen Spermatozyten und weiter ausgereifte Zellen eine Karyolyse. Das Zytoplasma der Zelle wird homogen, der Zellkern verliert seine Basophilie, er wird eosinophil durchtränkt. Die Chromatinstrukturen sind verwaschen und lösen sich auf: eosinophile Zelldegeneration (Abb. 23).

Der Spermatogonienkern wird pyknotisch. Ein schmaler Zytoplasmasaum umgibt ihn. Gelegentlich hebt sich die Kernmembran von einem solchermaßen verdichteten Kern ab.

Die Lamina propria spaltet sich noch stärker auf als dies nach drei Stunden der Fall ist; der Raum zwischen den Schichten färbt sich blaß eosinophil. Feinste

granulofibrilläre Niederschläge heften sich an die Schichten.

Die Gefäße im Zentrum der Nekrose sind nur in ihren Kollagen- und Elastinstrukturen erhalten, sowohl Endothel als auch die Zellen von Media und Adventitia sind zerstört. Das interstitielle Bindegewebe ist azellulär. Kapillaren, Fibrozyten, Leydig'sche Zwischenzellen, Makrophagen oder Granulozyten sind nicht zu sehen. Nirgends finden sich dichtere Fibrinniederschläge. Weiter peripher sind die Gefäßwände immer noch nekrotisch, führen aber Blut und vor allem Granulozyten, die durch sie ins Interstitium austreten. Offensichtlich scheint hier der Lysolecithin-Gehalt noch ziemlich hoch zu sein, denn im Interstitium sind zahlreiche nekrotische Granulozyten. Ihr Kern zerbricht, ihr Zytoplasma löst sich auf.

Noch weiter von der Depothöhle entfernt sind die meisten Zellen der Tubuli nekrotisch oder bilden verschiedene Riesenzellen. Die Gefäßwände zeigen hier Vakuolen in der Media und Adventitia, neben und in den glatten Muskelzellen; ihre Kerne werden oft von einem intranukleären Ödem blasenförmig aufgetrieben.

Nach außen schließt sich eine hyperämische Zone an; die Interstitien sind mit Fibrin ausgegossen und Gra-

nulozyten sind nur in spärlicher Anzahl im Bindegewebe zu sehen. Das Samenepithel zeigt keine Reaktion mehr.



Abb. 21 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion von Lysolecithin:
Depothöhle, umgeben von einem Saum nekrotischen Gewebes.
Formalin, Makrophotogramm, Vergr. 1 : 9



Abb. 22 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion von Lysolecithin.
Scharfer Übergang von nekrotischen zu unveränderten Tubuli.
Fibrinös-leukozytäre und hyperämisch-ödematöse Demarkations-
zone.
Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm, Vergr. 1 : 75

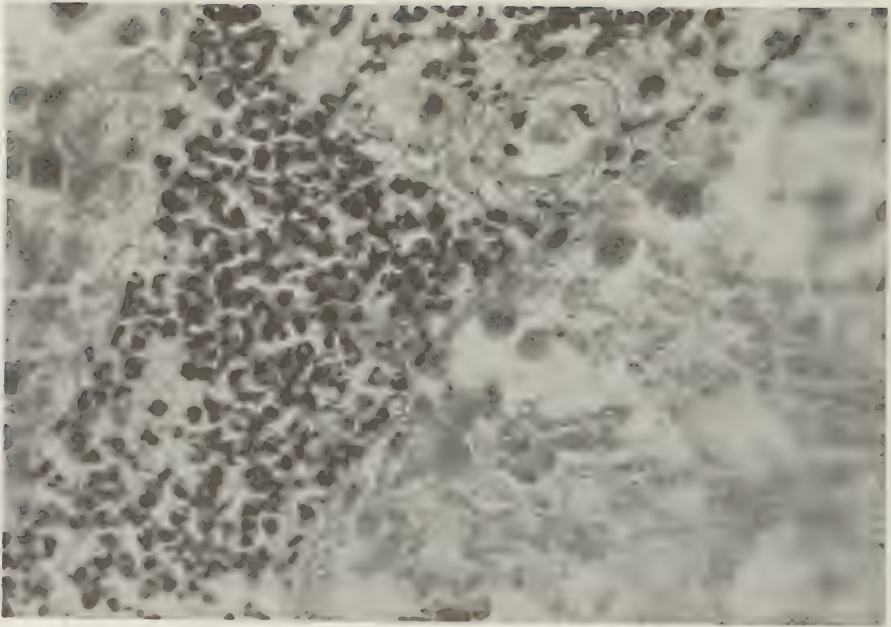


Abb. 23 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion von Lysolecithin:
Leukozytäre Infiltration streng auf die Interstitien beschränkt.
Karyopyknose der Spermatogonien, Karyolyse der weiter
differenzierten Zellen. Gefäß mit Endothelnekrose und zer-
fallenden Erythrozyten.
Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm Vergr. 1 : 750

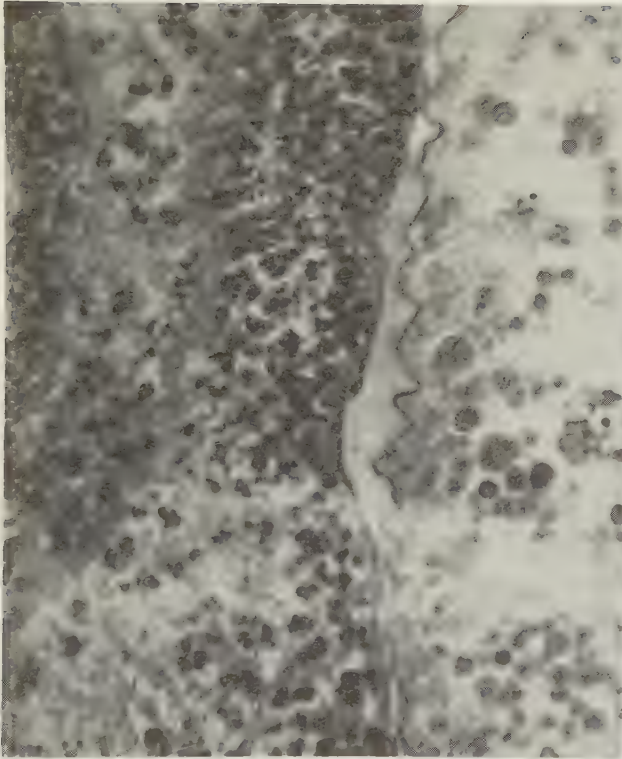


Abb. 24 : Rattenhoden, 24 Stunden nach der Injektion von Lyssolecithin. Schwerste Schädigung des Tubulus; alle Zellen werden aufgelöst, Karyolyse auch der Spermatogonien. Aufsplitterung der Lamina propria, Torquierung der inneren Lamelle. Dichte Infiltration des Interstitiums mit Granulozyten, die aber nirgends die Lamina propria überschreiten. Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm Vergr. 1 : 420

Die Wirkung von Natrium-Tauroglycocholats auf den Rattenhoden

In dieser Gruppe wurde die Wirkung von biologischen Detergentien - Gallensalzen - auf den Rattenhoden untersucht. Dabei wird der Effekt einer 2%igen und einer 0,75%igen Lösung von einer Mischung aus Natrium-Glycocholats und Natrium-Taurocholats in physiologischem Verhältnis aus zwei Gründen geprüft: erstens, um den toxischen Effekt der Gallensalze allein, gegenüber dem zusammen mit Phospholipase A erzeugten, zu explorieren. Zweitens, um zu sehen, ob die Nekrosen, die bei der Taurocholatspankreatitis erzeugt wurden, sich auch im Hoden nachweisen lassen und somit also kein Zutun des Pankreas erfordern.

1. Zeit von der Injektion bis zur Entnahme des Hodens:

3 Stunden

Präp.-Nr.: 0,75% NaTGC - 72,75,78,115,116 Gruppe 4a

2,00% NaTGC - 125, 126 Gruppe 4b

Natrium-Tauroglycocholats, Hoden, 3 Stunden

Drei Stunden nach Injektion von 0,08 ml der jeweiligen Versuchslösungen werden die Hoden entnommen; da sie

sich nach drei Stunden weder makroskopisch noch mikroskopisch unterscheiden, seien die Ergebnisse zusammen dargestellt.

Die Testes sind makroskopisch unauffällig. In der Tunica albuginea ist die Einstichstelle der Injektion zu sehen. Mikroskopisch findet sich eine Reaktionszone, die ungefähr ein Zehntel der Querschnittsfläche ausmacht. Ein fibrinöses, eiweißreiches Exsudat liegt im Interstitium. Die Gefäße enthalten Granulozyten, die ins Interstitium auswandern. Das Keimepithel ist unbeschädigt und nur wenige Ödemhöhlen drängen die Zellen auseinander. Die Lumina der Hodenkanälchen sind durch residual bodies aufgefüllt. Teils sind es unterschiedlich große runde Tropfen, teils sind es die eosinophilen Schwänze der Spermien. Der Tubulusinhalt sieht unruhig aus. Ziemlich abrupt geht die Reaktionszone in unverändertes Parenchym über. Schäden sind nicht direkt erkennbar, sondern lassen sich nur aus der geringen leukozytären Reaktion erahnen.

2. Zeit von der Injektion bis zur Entnahme des Hodens:

24 Stunden

Präp.-Nr.: 0,75% NaTGC - 81,84,87,113,114 Gruppe 4a

2,00% NaTGC - 148,149,151,152, Gruppe 4b
156,157

Natrium-Tauroglycocholat, Hoden, 24 Stunden

Die fünf Testes, die eine 0,75%ige Lösung injiziert erhielten, zeigen nur einen sehr geringen Effekt. Makroskopisch ist das Gewebe unverändert, mikroskopisch zeigt sich eher eine Abschwächung denn eine Verstärkung der Befunde, die sich nach dreistündiger Einwirkung ergeben.

Es besteht weiterhin ein deutliches intertubuläres Ödem, das reichlich Fibrin enthält. Auch Granulozyten sind zu sehen; verglichen mit den Hoden, die nach drei Stunden entnommen wurden, hat ihre Zahl nicht zugenommen. Der plasmatische Randstrom ist fast frei davon. Die Tubuli zeigen keine Schäden bis auf eine Auffüllung des Lumens mit eosinophilen Massen, das Keimepithel ist wohlerhalten, Riesenzellen fehlen.

Gruppe 4b:

Da wiederholt in der Literatur über die Zytotoxizität von Taurocholat berichtet wurde (WANKE, 1970) und

andererseits dieselbe auch in Frage gestellt wurde (Literatur bei BECKER, 1973), erhöhten wir die Konzentration der Gallensalzlösung auf 2% bei gleichem Injektionsvolumen (0,08 ml).

Dabei zeigt sich makroskopisch eine bräunliche, vom übrigen Parenchym zu unterscheidende Zone unterschiedlicher Größe. Durchschnittlich nimmt sie ein Zwanzigstel bis ein Zehntel der Querschnittsfläche ein. In ihr sind zahlreiche Tubuli nekrotisch und nur noch als eosinophile Schatten zu erkennen. Die Kerne dieser Zellen sind braun oder stärker eosinophil als ihr Zytoplasma. Einzelne Spermatogonien haben einen pyknotischen Kern. Die Kernmembran hebt sich ab. Weiter entwickelte Zellen neigen mehr zur Karyolyse. In den weniger stark geschädigten Tubuli finden sich Riesenzellen unterschiedlicher Herkunft: Spermatidenriesenzellen, selten Spermatozytenriesenzellen und die hier häufiger auftretenden Spermatogonienriesenzellen. Ihr Zytoplasma ist homogen und ihre zwei bis sechs Kerne sind von runder oder nierenförmiger Gestalt. Sie liegen basal, unmittelbar an der Tubuluswand. Im Gegensatz zu den Versuchen mit Phospholipase A oder Lysolecithin splittert sich die Lamina propria der Tubuli nach der Injektion von Gallensalzen nicht auf. Innere und äußere Lamellen bleiben direkt miteinander verklebt.

Ein ausgeprägtes intertubuläres Exsudat drängt die Kanälchen auseinander. Es setzt sich in den Intersertolizellraum fort und bläht ihn ballonartig auf. Schwach eosinophile homogene Massen liegen zwischen der Eigehaut der Samenkanälchen und den ins Tubuluslumen abgedrängten Spermatozyten und weiter entwickelten Zellen.

Innerhalb, und in geringerem Maße auch am Rande der Nekrose, finden sich dichte Granulozytenhaufen. Aus den Gefäßen austretend kommen sie in die breiten, dreieckigen Stellen des Interstitiums, von hier aus schieben sie sich auch an die schmalen Stellen vor. In einem Präparat brechen sie auch in die Tubuli und deren völlig nekrotischen Inhalt ein, in allen anderen beschränken sie sich auf das Zwischengewebe. Die Grenzen der Nekrose sind sehr scharf.

Kontrollversuche am Hoden

Gruppe 5: NaCl, Glycerin, Hoden, 24 Stunden

In dieser Gruppe injizierten wir bei vier Ratten 0,08 ml einer physiologischen Kochsalzlösung, um den Effekt der Injektion als solcher zu prüfen. Weder makroskopisch noch mikroskopisch konnten nach 24 Stunden irgendwelche Veränderungen nachgewiesen werden.

Bei den restlichen fünf Tieren wurden 0,08 ml einer 30%igen Glycerinlösung zusammen mit 0,01 mg eines inerten Proteins (Humanalbumin) in einen Hoden eingebracht; diese Lösung entspricht der Phospholipase-A-Lösung, die wir bei den entsprechenden Versuchen benutzten; auch bei dieser war die Glycerinkonzentration 30% und die Proteinmenge 0,1 mg. Außer einem schwachen Ödem treten keine Veränderungen auf. Bei Vorversuchen, die mit normalem Glycerin DAB 7 ausgeführt wurden anstatt mit "ultrareinem" Glycerin, treten mäßige Nekrosen auf, die wahrscheinlich durch die bei der Destillation entstandenen toxischen Verbindungen, wie Acrolein, bedingt sind.

Die Wirkung von Phospholipase A auf das Pankreas

Präp.-Nr.: 101, 102, 117, 103, 134, 137

Gruppe 1: Phospholipase A, Pankreas, 24 Stunden

Beispiel: Tier Nr. 61

Das Abdomen wird nach der Methode von HEINKEL (1953) bei dem durch Äther narkotisierten Tier eröffnet, der bei Ratten gemeinsame Gallen- und Pankreasgang aufgesucht und mit einer Nadel Nr. 12 transduodenal und durch die Papille hindurch sondiert. Ohne Druck werden 0,12 ml einer Phospholipase-A-Lösung instilliert, die Papille eine Minute lang zugehalten und anschließend der Darm zusammen mit dem Pankreas zurückverlagert und das Abdomen verschlossen. Drei Minuten später erwacht das Tier.

24 Stunden später wird es in Äthernarkose getötet und die inneren Organe entnommen. Bei der Eröffnung des Abdomens zeigen sich ausgedehnte Fettgewebsnekrosen als brüchige, weiße Flecken auf dem Mesenterium. Das Pankreas liegt dicht an der Leberunterseite; an den Berührungsflächen ist die Leber graugrünlich verfärbt. Große Teile des Pankreas selbst machen einen unveränderten Eindruck; das Fettgewebe zwischen den Läppchen ist nekrotisch und an diesen Stellen erscheint das

Parenchym etwas trübe. Ein Aszites ist nicht zu erkennen. Mikroskopisch finden sich nur wenige und sehr weit verstreute Nekrosen, die eine kleine Fläche einnehmen.

Auch bei den übrigen Tieren dieser Gruppe ist der Aszites nicht sehr ausgeprägt: eine geringe Menge eines bräunlichen, leicht getrübbten serösen Exsudats, auf dem meist kleine Öltröpfchen schwimmen. Die Rivalta'sche Probe ist positiv. Das Pankreas selbst ist unauffällig. Nur sein Fettgewebe ist brüchig und auch das Fettgewebe des mesenterialen Darmansatzes kalkig weiß. An der Porta hepatica sieht man kleine gelbliche Stippchen und manchmal ist die Leberunterfläche an der Berührungsfläche mit dem Pankreas etwas verfärbt. Retroperitoneales Fettgewebe ist stets unverändert.

Mikroskopisch wird der makroskopische Befund bestätigt. Es finden sich nur unbedeutende Veränderungen am Pankreas. Das Epithel des Ductus wirsungianus ist unverändert. Hier sieht man weder Leukozyten noch ein Odem unter dem einschichtigen Epithel des Ganges oder der einmündenden Ductuli. Ganz weit verstreut, und auch nicht in jedem Schnitt, finden sich Granulozyten im plasmatischen Randstrom der Gefäße und einige auch im perivasalen Raum. Vereinzelt und disseminiert zeigen sich

kleine Nekrosen. Ein Ödem, das gelegentlich auch in ein fibrinöses Exsudat übergeht, umgibt einzelne Azini. Im Bereich dieses Extravasats verlieren die Drüsenepithelien ihre basale Basophilie, paranukleäre Vakuolen sind im Zytoplasma. Insgesamt betrachtet, sind die Veränderungen im Pankreasparenchym nicht sehr ausgeprägt. Diese Beobachtung ist in Übereinstimmung mit der Literatur (SCHMIDT u. Mitarb., 1967; SCHMIDT, 1969, 1970; WANKE u. Mitarb., 1968).

Funktionell wurde das Pankreas hingegen geschädigt. Schon der makroskopische Befund eines Aszites von ca. 0,5 bis 1,0 ml von bräunlicher Farbe mit darauf schwimmenden Fetttropfen deutet auf eine pathologische Reaktion der Drüse. Mikroskopisch findet er sein Korrelat in den Fettgewebse Nekrosen.

Die nekrotischen Fettzellen sind größer als lebende, sie haben ihren Kern verloren. Ihr Zytoplasma ist schwach eosinophil und zeigt, im Gegensatz zu erhaltenen Fettzellen, eine feine Granulierung. In der Peripherie liegen Resorptionsriesenzellen. Bei dieser Nekrose werden wahrscheinlich toxisch wirkende Fettsäuren frei (FINKERTON, 1928; HIRSCH, 1938, EHRLICH, 1956), die ein granulozytenreiches Exsudat hervorrufen.

in der unmittelbaren Nähe von Pankreasgewebe führen die aus den toten Fettzellen ausdiffundierenden Fettsäuren zur umschriebenen Nekrose von Pankreasepithelien. Bis zu einer Tiefe von zwei bis drei Azinusreihen kollabieren die Läppchen. Ihre Zellen verlieren die apikale Granulierung und die basale Basophilie und zeigen ein homogen-eosinophiles Zytoplasma. Ihre Kerne sind pyknotisch und von unregelmäßiger Gestalt. Einige nekrotische Azini besitzen überhaupt keine Zellkerne mehr. Beachtenswert bei dieser Pankreasnekrose ist die Lage: sie ist streng an die äußeren zwei Schichten des Läppchens, an die unmittelbare Nähe der Fettgewebsnekrose gebunden (Abb. 25).

Eigenartig ist die Verteilung der Nekrosen im Körperfett. Besonders das Fettgewebe am mesenterialen Ansatz des Darmes ist betroffen, ebenso wie das des Omentum majus und, wie Versuche mit anderen experimentellen Pankreatitiden gezeigt haben, auch das epididymale Fettgewebe. Nur bei schwersten Pankreasnekrosen konnten wir auch retroperitoneale Fettgewebsnekrosen nachweisen. Diese Beobachtung steht nicht allein (CHIARI, 1883; COUPLAND, 1971; GROSSMAN, 1955; LUKASH, 1968; STORCK, 1971; THEVE, 1972).

Um die nicht mit den übrigen Versuchsergebnissen in Einklang zu bringenden Beobachtungen von ANDERSON

(1969) nachzuvollziehen, injizierten wir bei einer Ratte (Tier Nr. 45) unter mäßigem Druck 0,25 ml der Phospholipase-A-Lösung. Dies führte zu wesentlich deutlicheren und größeren Parenchymnekrosen, die vorwiegend läppchenzentral liegen. Der Wirsung'sche Gang und seine größeren Aufzweigungen sind dabei nicht betroffen, die kleineren zeigen vereinzelt Rupturen. Die Nekrosen finden sich perivasal; es zeigt sich ein ausgeprägtes eiweißreiches Ödem und zahlreiche Granulozyten darinnen. Auch die Fettgewebnekrosen sind größerflächig.

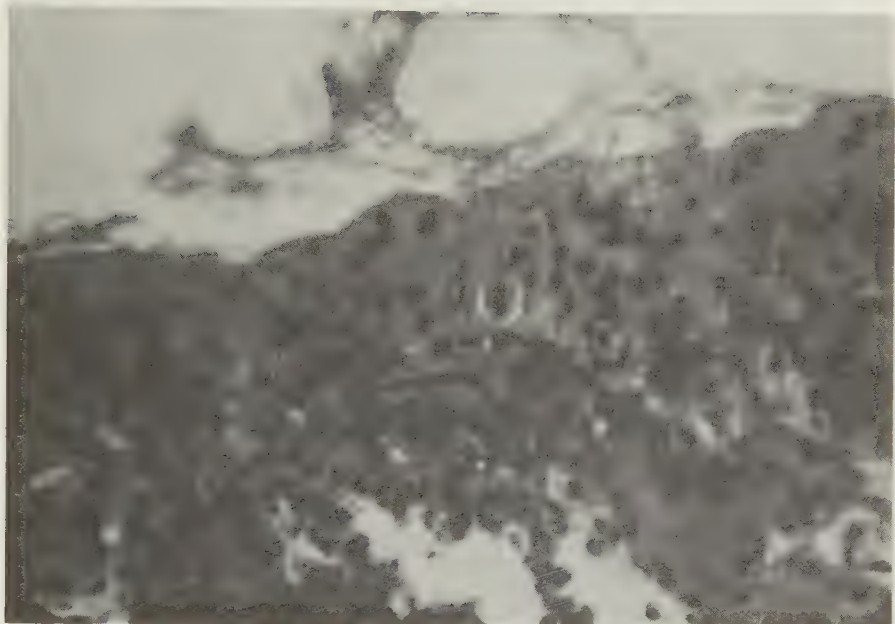


Abb. 25 : Rattenpankreas, 24 Stunden nach der Injektion von Phospholipase A ohne Druck. Pankreasnekrose in unmittelbarer Nähe der Fettgewebsnekrosen, wahrscheinlich durch eindiffundierende Fettsäuren. Azinuszellen mit verblässigendem Zytoplasma und einer Karyopyknose, Verlust der basalen Basophilie und apikalen Granulation. Fremdkörperriesenzellen, zahlreiche neutrophile Granulozyten. Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm vergr. 1 : 900

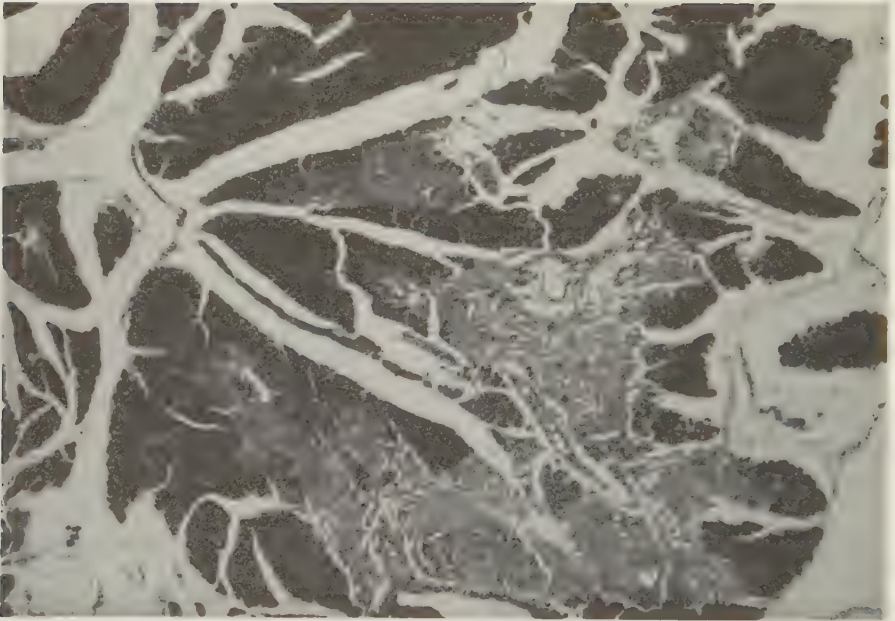


Abb. 26 : Rattenpankreas, 24 Stunden nach der Injektion von 0,25 ml Phospholipase A unter mässigem Druck. Läppchen-
zentrale, vorwiegend perivasale Nekrosen. Ausgeprägtes
Odem in den betroffenen Arealen.
Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm vergr. 1 : 50

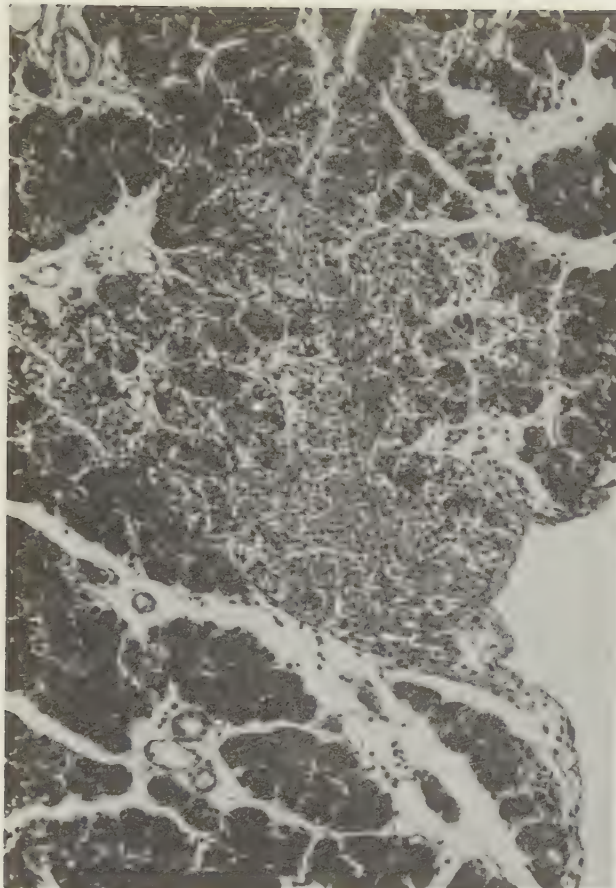


Abb. 27 : Rattenpankreas, 24 Stunden nach der Injektion von 0,25 ml Phospholipase A unter mässigem Druck; perivasale Nekrosen im Exsudatbereich.

Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm Vergr. 1 : 130



Abb. 28 : Rattenpankreas, 24 Stunden nach der Injektion von 0,25 ml Phospholipase A unter mässigen Druck, ausgeprägte perivaskale Nekrose mit starker granulocytkärer Infiltration und scharfer Abgrenzung von unverändertem Parenchym. formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm vergr. 1 : 200

Die Wirkung von Phospholipase A und Natrium-Tauroglychochat auf das Pankreas von Ratten

Präp.-Nr.: 141, 144, 146, 160, 161, 176

Gruppe 2: Phospholipase A + Natrium-Tauroglychochat, Pankreas, 24 Stunden

Bei den Tieren dieser Gruppe wurden ca. 0,11 ml einer Phospholipase-A-Lösung der Aktivität 125 U/ml (25°C) in einer 30%igen Glycerinlösung mit 0,75% Natrium-Tauroglychochat in den Ductus Wirsungianus injiziert und der Effekt 24 Stunden später kontrolliert.

Bei der Eröffnung des Abdomens stechen zunächst die ausgeprägten, brüchigen, kalkigweißen Fettgewebstnekrosen ins Auge. Wie bei der Injektion von Phospholipase A allein finden sie sich am Mesenterialfett und am omentalen Fettgewebe unmittelbar in Pankreasnähe. Auch die Appendices epiploicae werden befallen. Das übrige Fettgewebe ist unverändert. Wenig bräunlicher Aszites ist im Abdomen.

Wesentlich auffälliger ist das dichte, wie verbackene Konglomerat im Pankreasbereich; daran beteiligt sind Leber, Duodenum, einige Dünndarmschlingen, das Colon, Omentum majus und Pankreas; Pfortnausschwitzungen halten

es zusammen. Das peripankreatische Fettgewebe ist nekrotisch, der Ductus choledochus weit und das Duodenum atonisch schlaff.

Mikroskopisch zeigt das exkretorische Drüsenparenchym der Bauchspeicheldrüse zahlreiche Nekrosen. Jede einzelne von ihnen ist nur kleinflächig, zusammengenommen nehmen sie aber einen beträchtlichen Teil der Drüse ein. Sie liegen zentrilobulär, meist in der Nähe eines Gefäßes oder eines Ausführungsganges und sie sind unregelmäßig begrenzt. Sie finden sich im Bereich eines konzentrischen Ödems oder an Stellen, die von Aszites mit einem Lecithingehalt von ungefähr 150 mg% (HINSBERG u. Mitarb., 1953) umspült werden (Abb. 29). Die einzelnen Azini werden dadurch auseinandergedrängt. An allen Stellen, an denen sich dieses Ödem, z.T. auch Exsudat, findet, sind Nekrosen oder deren Vorstufen zu erkennen: es kommt zu einem Verlust der basalen Basophilie, die apikalen Zymogengranula werden ausgeschleust oder durch Zytoplasmavakuolen verdrängt (Abb. 30). Um die Kerne liegen Ödemhöhlen (intrasellulär), teils para-, teils perinukleär. Schließlich kommt es zur Karyolyse, seltener -pyknose oder -rhexis, das Zytoplasma der Zelle wird homogen eosinophil, Zellgrenzen verschwinden. Dabei blassen die Kerne unter Schwellung und Kernwandhyperchromatose ab. Der Nukleolus bleibt lange erhalten. Manchmal wird ein ganzer Azinus homogen

eosinophil anfärbt, ohne daß sich Zellgrenzen, Kerne oder Zymogengranula darstellen lassen. Meist aber ist die dem Gefäß oder Exsudat zugewandte Seite eines Azinuszells schwerer betroffen als die abgewandte (Abb. 31).

Die Kapillaren sind strotzend hyperämisch und enthalten viele Granulozyten, ohne daß man eine leukozytäre Demarkation der Nekrose sehen würde. Das Epithel der größeren Gänge und des Ductus Wirsungianus ist völlig unbeteiligt. Nur wenige Leukozyten sind in ihrer Umgebung. Die Leber zeigt in den mit dem Pankreas verbackenen Teilen Nekrosen. Die bereits beschriebenen Pankreasnekrosen in unmittelbarer Nähe der ausgeprägten Fettgewebsnekrosen treten auch hier auf.



Abb. 29 : Rattenpankreas, 24 Stunden nach der Instillation von Phospholipase A und Na-glycotaurocholat: Pankreasnekrose hier vorwiegend läppchenperipher und im Bereich des Aszites. Ausgeprägtes Odem im Nekrosebereich.
Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm vergr. 1 : 40

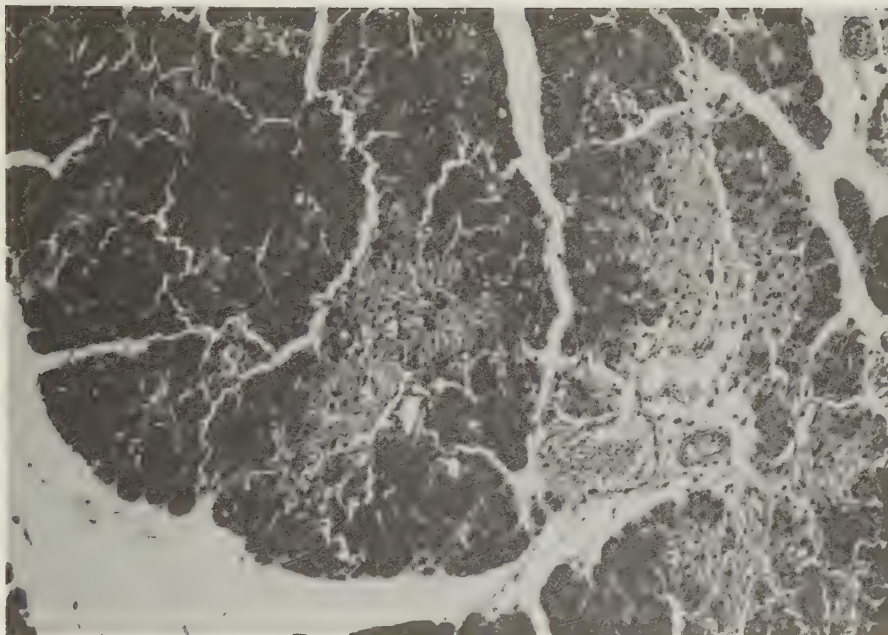


Abb. 30 : Rattenpankreas, 24 Stunden nach der Injektion von Phospholipase A und Na-Glycotaurocholat. Pankreasnekrose im Bereich des perivasalen Exsudats. Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm Vergr. 1 : 140



Abb. 31 : Rattenpankreas, 24 Stunden nach der Injektion von Phospholipase A und Na-glycotaurocholat: Azin aus dem Randgebiet einer Nekrose mit degenerierenden Parenchymzellen. Verlust der basalen Basophilie und der apikalen Zymogengranula. Ausgeprägte perinukleäre Vakuolen, Karyopyknosen, Karyolysen.
Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm Vergr. 1 : 1800

Die Wirkung von Lysolecithin auf das Pankreas von
Matten

Präp.-Nr.: 104, 105, 129, 130, 131, 184, 221, 222,
223, 224

Gruppe 3: Lysolecithin, Pankreas, 24 Stunden

Bei neun kastrierten Matten wurde in den Ductus pancreaticus 0,12 ml einer 2%igen Lysolecithinlösung instilliert. Diese ergeben ungefähr 4 Mikromol. Die Tiere wurden 24 Stunden später getötet.

Dabei findet sich ein mäßig ausgeprägter, durch Blut und Hämoglobin-Abbauprodukte bräunlich verfärbter Aszites von 2-3 ml mit darauf schwimmenden Öltropfen. Fettgewebnsnekrosen liegen im peripankreatischen Fettgewebe und an den Appendices epiploicae. Die Leberunterseite zeigt bei einigen Tieren Nekrosen.

Das Gangepithel der größeren Gänge und in geringerem Maße auch des Ductus Wirsungianus selbst ist schwer geschädigt. Die meisten Zellen des prismatischen Epithels sind nekrotisch: ihr Kern vergrößert sich unter Verlust der Basophilie, seine Grenzen werden unscharf, Karyolyse unter leicht basophiler Färbung des Zytoplasmas. Sogar Zellen seiner Lamina propria werden

nekrotisch, bleiben flach und unregelmäßig weit voneinander liegen. Periduktulär findet sich ein ausgeprägtes Ödem, meist mit wenig Fibrin, aber mit sehr vielen Granulozyten. Gelegentlich ist dieses Ödem blutig (Abb. 32).

Nekrotische Azini finden sich vorwiegend periduktulär oder im Bereich der peripankreatischen Fettgewebnekrosen. Auch im Bereich eines ausgeprägten Exsudats sind sie zu finden. Meist werden die nekrotischen Azini von einem fibrinös-blutigen Exsudat umgeben mit einigen Granulozyten dazwischen (Abb. 34, 35). Die nekrotischen Drüsenzellen zeigen einen Verlust der basalen Basophilie mit der Ausbildung eines paranukleären, fast perinukleären Ödems; danach setzt eine Karyolyse und Karyorhexis ein. Bei diesem Zustand finden sich noch zahlreiche Zymogengranula in den apikalen Teilen der Zelle, die dadurch umsomehr gefährdet erscheint (Abb. 36). Unter Vergrößerung der anfangs nur basal gelegenen Vakuolen werden sie ins Azinusbinnenlumen gedrängt. Danach löst sich die Zelle auf. Schwach eosinophile Schatten lassen die nekrotischen Azini mehr erahnen als sehen. Der Epithelverband ist dissoziiert.

Das periazinäre Bindegewebe enthält zahlreiche Granulozyten und viel Fibrin (Abb. 35). Ein Lymphödem umgibt

zahlreiche Azini und schiebt sich zwischen Azini und Interstitium (Abb. 36). Wahrscheinlich entsteht es durch eine Obstruktion der Lymphwege durch Detritus und Nekrose der Lymphgefäße. Es findet sich demgemäß nur in unmittelbarer Nähe der Nekroseherde.



Abb. 32 : Rattenpankreas, 24 Stunden nach der Instillation von 2 %iger Lysolecithinlösung. Ausgedehnte, vorwiegend periductuläre Nekrosen, starkes Ödem. Zerstörung des Epithels der Ductuli pancreatici und des Ductus Wirsungianus.

Formalin, Paraffin, HE , Mikrophotogramm Vergr. 1 : 50

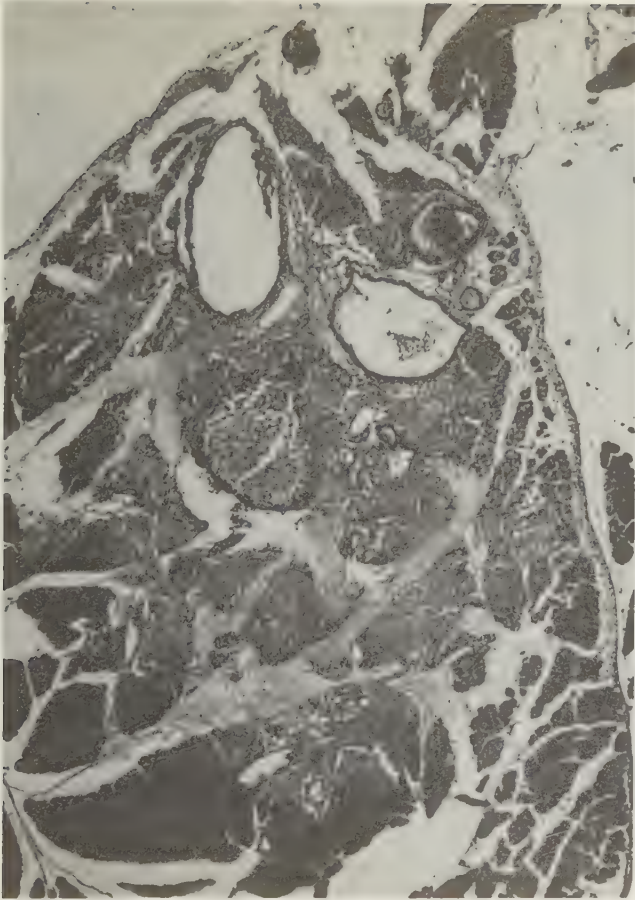


Abb. 33 : Rattenpankreas, 24 Stunden nach der Instillation von
Lysolecithin: mächtiges, hämorrhagisches Ödem mit
ausgedehnten Parenchymnekrosen. Geringe Anzahl an
Granulozyten.

Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm Vergr. 1:30

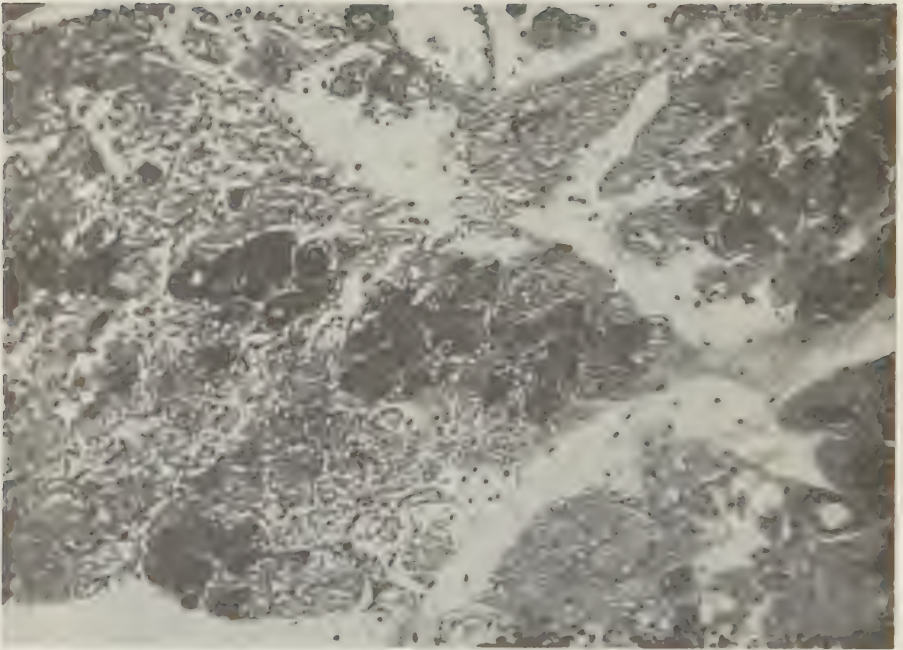


Abb. 34 : Rattenpankreas, 24 Stunden nach der Instillation
von Lysolecithin: schwere Nekrose, interstitielles
Ödem.
Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm, Vergr. 1 : 160

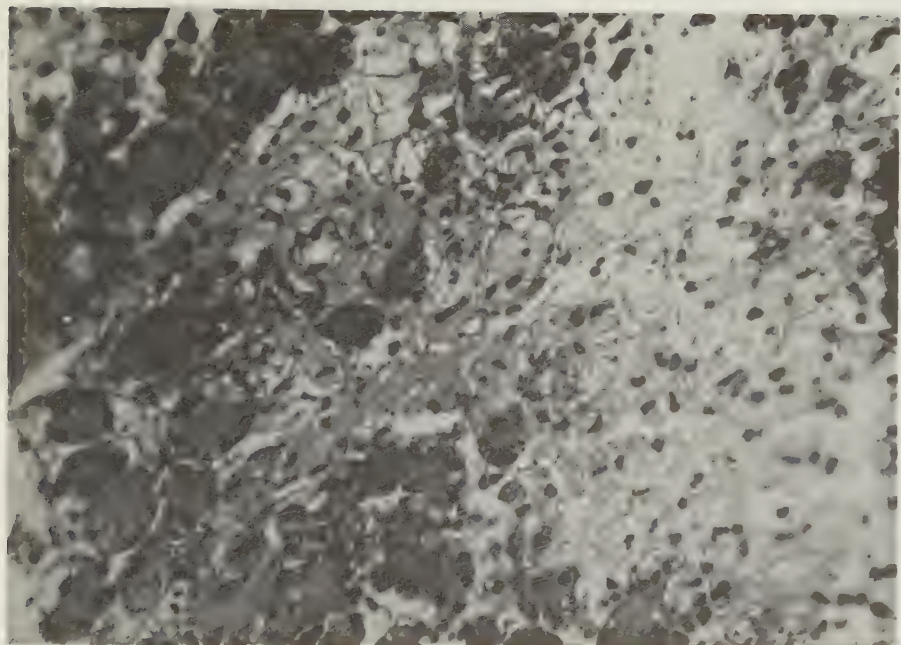


Abb. 35 : Rattenpankreas, 24 Stunden nach der Instillation von
Lysolecithin. Schwere, unregelmässig begrenzte Nekrose
der Azini, Einblutungen, Exsudat.
Formalin, Paraffin, Haemalaun-Eosin, Mikrophotogramm
Vergr. 1 : 200



Abb. 36 : Rattenpankreas, 24 Stunden nach der Instillation von Lysolecithin. Azinus am Rande einer Nekrose. Gestauter periazinärer Raum der wahrscheinlich aus Lymphgefäßen und Bindegewebe besteht und nur unter pathologischen Bedingungen zur Beobachtung gelangt. Formalin, Paraffin, HE, Mikrophotogramm, Vergr. 1: 1750

Die Wirkung von Natrium-Tauroglycocholat auf das Pankreas von Ratten

Präp.-Nr.: 93, 140, 150, 153

Gruppe 4: Natrium-Tauroglycocholat, Pankreas, 24 Stunden

Bei sechs kastrierten Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 200 Gramm injizierten wir 0,12 ml einer 0,75%igen Lösung von Natrium-Tauroglycocholat. Nach 24 Stunden wurden die Tiere getötet und die inneren Organe besichtigt. Vor Ablauf dieser Zeit verstorbene Tiere wurden nicht mit berücksichtigt.

Beispiel: Ratte Nr. 63

Die Operation nach der Methode von HEINKEL (1953) verläuft ohne Komplikationen, das Tier erwacht 3 Minuten nach der Narkose, ist aber in den nächsten 24 Stunden offensichtlich krank. Tötung in Äthernarkose.

Der makroskopische Befund: Die Lunge zeigt dystelektatische Lappen, besonders an der Basis. Im Abdomen findet sich ein Aszites von 16 ml einer bräunlichen Flüssigkeit mit darauf schwimmenden Fetttropfen. Überall im Abdomen ausgeprägte Fettgewebsnekrosen von gelblicher, brüchiger Beschaffenheit. Das Pankreas ist

hyperämisch, die Lobuli sind auseinandergedrängt durch ein Ödem.

Mikroskopisch finden sich ausgeprägte Fettgewebse Nekrosen und nur sehr wenig zerstörtes Parenchym. Die Lobuli sind durch ein ausgeprägtes, teils fibrinöses Ödem auseinandergedrängt.

Bei den übrigen Tieren beträgt das durchschnittliche Aszitesvolumen vier bis fünf Milliliter. Es ist gelblich mit darauf schwimmenden Fetttropfen. Im mesenterialen Fettgewebe, besonders in Darmnähe und im Omentum, sind kalkig-weiße Stellen: Fettgewebse Nekrosen. Das Pankreas zeigt keine Nekrosen, aber sieht ziemlich feucht aus.

Auch mikroskopisch finden sich die Azinusnekrosen vorwiegend im Bereich der Fettgewebse Nekrosen. Gegenüber den periduktulären Zelluntergängen sind sie durch eine immense Granulozyteninfiltration gekennzeichnet. Die übrigen nekrotischen Stellen sind klein und liegen weit voneinander entfernt. Sie finden sich läppchenzentral, meist um einen kleineren oder größeren Pankreasgang herum, und sind fleckförmig im Schnitt verteilt. Hier ist der Zellverband aufgelöst. Die Kernreste der Azinuszellen sind radspeichenförmig, das Zytoplasma blaß. An anderen Stellen sind die Kerne noch besser

erhalten, aber die Zellmembranen sind verschwunden. Weiter peripher finden sich juxtanukleäre Vakuolen in den Epithelzellen.

Die einzelnen Azini werden besonders im Umkreis von Gefäßen durch ein mehr oder minder eiweißreiches Odem/Exsudat auseinandergedrängt. Sie stehen dann wie isoliert. Im Interstitium finden sich Granulozyten. - Insgesamt zeigt sich, daß die Veränderungen nicht durch die Nekrosen, sondern vielmehr durch das Pankreasödem getragen werden.

Dieses Ödem besteht sicherlich nur zum Teil aus den instillierten Gallensalzlösungen (entsprechend einem Speichelödem). Ein beträchtlicher Part dürfte auch durch ein vaskulär bedingtes Ödem und Exsudat entstanden sein, wie sich durch die Eosinophilie und die Fibrinniederschläge zeigt. Diese Reaktion ist nicht ungewöhnlich: die subkutane oder intramuskuläre Injektion von Natrium-Glycotaurochoolat bei drei Mäusen führt zu einer ausgedehnten Schwellung am Injektionsort.

Wenn man die Veränderungen nach der Injektion von Natrium-Glycotaurochoolat allein und in Mischung mit Phospholipase A vergleicht, so zeigen sich folgende Unterschiede:

1. quantitativ: Bei Injektion der Mischung sind die Nekrosen wesentlich ausgeprägter. Große Teile des Parenchyms sind nekrotisch.
2. qualitativ: Nekrosen nach der Injektion von Phospholipase A und Natrium-Glycotaurocholat liegen vor allem perivasal, weniger um die Äste des Ductus Wirsungianus herum, wie dies nach der Injektion von Gallensalzen der Fall ist. Unsere Beobachtungen stehen damit in Übereinstimmung mit der Literatur (WANKE u. Mitarb., 1966; 1968 a, b, c; 1969; 1976; WANKE, 1970).
3. hinsichtlich des Schädigungsmodus: Während nach Gallensalzen eine Heterolyse des Pankreasepithels an Stellen mit toxischer Konzentration erfolgt, wird durch die Mischung mit Phospholipase A die Autodigestion in Gang gesetzt. Hierbei wird die Drüse nicht zerstört, sondern sie zerstört sich selbst.

Kontrollversuche

Präp.-Nr.: 204, 205, 209, 210, 212, 213, 214, 215, 216

Gruppe 5: NaCl, Glycerin, Pankreas, 24 Stunden

In Kontrollversuchen instillierten wir bei vier Tieren 0,12 ml einer physiologischen Kochsalzlösung in den Pankreasgang. Weder die makroskopische noch die mikroskopische Prüfung des Pankreas zeigte nach 24 Stunden irgendwelche Veränderungen.

Auch die Instillation von 0,12 ml einer 30%igen Glycerinlösung zusammen mit 0,1 mg Humanalbumin führte zu keinen Effekten, weder im Pankreas noch am Fettgewebe. Nicht genügend gereinigte Glycerinlösung, wie Glycerin DAB 7, führte zu mäßigen Nekrosen.

Diskussion

Einleitung

Es gibt verschiedene Methoden, um die Wirkung einer chemischen Substanz morphologisch zu ergründen. Die einfachste davon ist es, sie in ein bestimmtes Organ zu injizieren und den Effekt nach verschiedenen langen Zeitabständen zu untersuchen. Aus dem Verlauf und dem Endergebnis der Reaktion des Gewebes lassen sich Rückschlüsse auf die Wirkungsweise der Noxe gewinnen.

In unseren Versuchen beschreiten wir diesen Weg. Um die Wirkung der Phospholipase A zu untersuchen, injizierten wir dieses Enzym in das Pankreas und in den Hoden von Ratten.

Die Bauchspeicheldrüse wählten wir als Versuchsgewebe, weil dieses Enzym in ihrem Sekret in besonders hoher Konzentration vorkommt und wahrscheinlich die entscheidende Rolle bei der Entstehung einer akuten Pankreatitis spielt.

16 zahlreiche Untersucher vor uns instillierten wir eine Phospholipase-A-Lösung (mit und ohne Gallensaltzusatz), eine Lysolecithin- oder Glycotaurocholatlösung in den Ductus Wirsungianus. Im Gegensatz zu den nachfolgend aufgeführten Verfassern dieser Arbeiten verwendeten wir jedoch geringer konzentrierte Substanzen und kleinere Injektionsmengen, die keinen Druck zu ihrer Instillation benötigten (ANDERSON u. Mitarb., 1969; GREUTZFELDT u. Mitarb., 1966, 1970; GJONE u. Mitarb., 1967, 1969; HAGEN u. Mitarb., 1969; HASHIHARA u. Mitarb., 1971; PAPP u. Mitarb., 1973; SCHMIDT, 1969, 1970; SCHMIDT u. Mitarb., 1967; WANKE u. Mitarb., 1968 a, b). Unsere Versuche entsprechen besser den pathophysiologisch möglichen Bedingungen.

Die Experimente am Pankreas sind nicht eindeutig zu interpretieren. Zwar steht die Ätiologie dieser tryptischen Nekrose fest: Phospholipase-A-Instillation in den Ductus Wirsungianus. Die Pathogenese hingegen bleibt bei diesen Versuchen unklar; es ist nicht zu entscheiden, ob die Phospholipase A selbst zur Nekrose führt, oder ob sie dazu der Mithilfe anderer Enzyme des Pankreas bedarf, die sie aus den Zellen freigesetzt hat. Das berühmte Beispiel der Olivenöl-Pankreatitis sei zur Verdeutlichung herangezogen.

Seit den Untersuchungen von CLAUDE BERNARD (1856) weiß man, daß die Instillation von Olivenöl in den Pankreasgang eine akute Pankreatitis hervorruft, die sehr große Ähnlichkeit mit der tryptischen Nekrose der menschlichen Bauchspeicheldrüse besitzt. Die Ätiologie ist klar: intraduktuläres Olivenöl. Die Pathogenese hingegen ist wesentlich komplizierter, wie WANKE u. Mitarb. (1966) zeigten. Die schädigende Noxe ist nämlich nicht das eingebrachte Olivenöl, sondern seine Abbau- und Reaktionsprodukte, die eine toxische Wirkung und eine Verschiebung des pH's in der Bauchspeicheldrüse hervorrufen. Dies wiederum führt (wahrscheinlich) über eine Aktivierung von Pankreasfermenten zu einer tryptischen, autodigestiven Pankreatitis (WANKE, 1968). Kontrollversuche, bei denen inertes, nicht spaltbares Paraffinöl instilliert wurde, zeigen keine schwereren Veränderungen. Aus der Kenntnis der Ätiologie einer experimentellen Pankreatitis ist damit bei der Vielfalt der Fermente in dieser Drüse noch keinerlei Aussage über die Pathogenese möglich. Selbst die Behauptung, dieses oder jenes Enzym sei nicht an der Entstehung der tryptischen Nekrose beteiligt, ist am Pankreas nur schwerlich zu beweisen.

Mit anderen Worten: um die Bedeutung der Phospholipase A für die Pathogenese der akuten Pankreatitis zu unter-

suchen, darf man sie nicht in das Pankreas injizieren; in der Bauchspeicheldrüse wird die primäre Enzymwirkung durch andere, organeigene Fermente aus geschädigten Zellen oder leck gewordenen Ductuli abgewandelt und damit verfälscht.

Unsere Versuche am Rattenhoden sollen die Wirkung der Phospholipase A und ihres Reaktionsproduktes Lysolecithin deutlich machen. In diesem Organ sind proteo- und lipolytische Fermente nur in Spuren vorhanden. Eine experimentell erzeugte Nekrose, Entzündung oder sonstige morphologische Veränderung läßt sich aus diesem Grund besser und eindeutiger auf die Wirkung von Phospholipase A oder ihren Reaktionsprodukten, den Lysophospholipiden, zurückführen. Eine Verfälschung des Versuchsergebnisses durch andere Enzyme ist nicht zu befürchten. Die übrigen Bedingungen im Rattenhoden unterscheiden sich nicht wesentlich von jenen im Pankreas. Der Phospholipidgehalt und auch ihre Zusammensetzung ist sehr ähnlich; eingebrachte Phospholipase A findet damit in beiden Organen gleiche Bedingungen vor. Auch die Empfindlichkeit des Gewebes ist ähnlich groß. Sowohl im Hoden als auch im Pankreas wird das Parenchym durch ein hochdifferenziertes Epithel gebildet, das in beiden Organen sehr empfindlich auf verschiedene Noxen reagiert.

Der einzige Unterschied besteht in der geringeren Durchblutung des Hodens und damit einer verminderten Ausschwemmung einer injizierten Substanz. Die gleiche Phospholipase-A-Menge erzeugt deshalb am Hoden stärkere Veränderungen wie am Pankreas. Abgesehen von diesem quantitativen Unterschied bieten Hoden und Pankreas gleiche Versuchsbedingungen.

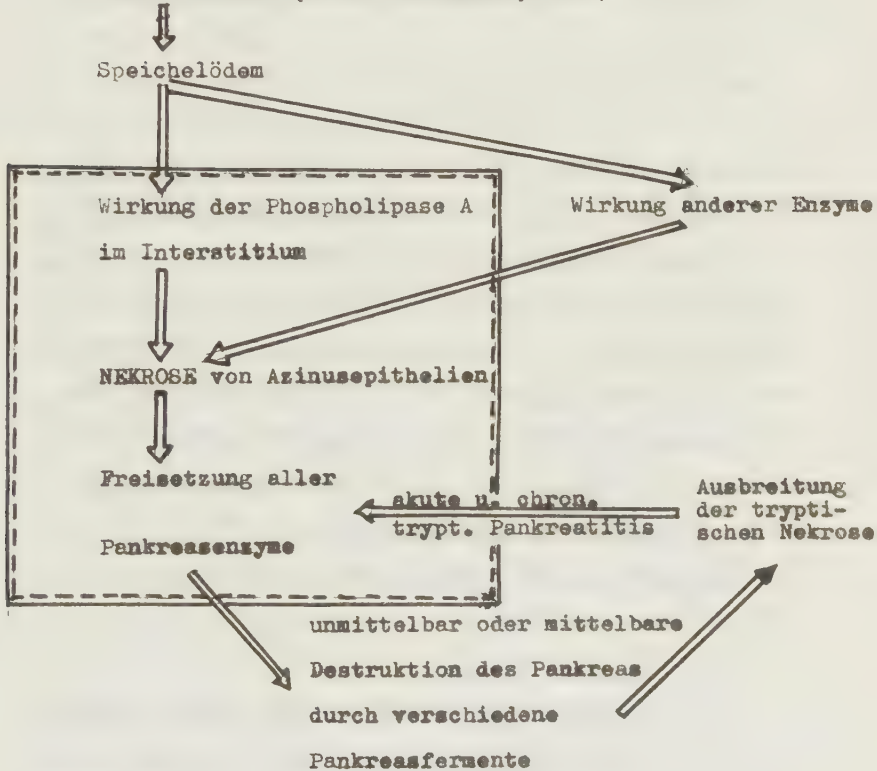
Es ist daher anzunehmen, daß Erkenntnisse über die Pathogenese der Phospholipase-A-Wirkung, die an den Testes gewonnen werden, sich ohne weiteres auf das Pankreas anwenden lassen. Nekrosen, die durch Phospholipase A im Hoden entstehen, sind damit auch im Pankreas möglich und bringen den Circulus vitiosus der akuten tryptischen Pankreatitis oder den Grundprozeß der chronischen Pankreatitis in Gang (BECKER, 1964 a, 1970 b, 1973; DOERR, 1970).

Unsere Experimente über die allgemeine Wirkung von Phospholipase A auf Gewebe versuchen den Schritt vom Speichelödem zur "ersten" Pankreaszellnekrose und dem weiteren Fortschreiten der Trypsis zu erklären.

Wir lassen ein Schema über die Stellung der Versuche mit Phospholipase A zu weiteren Untersuchungen in der Pankreatitisforschung folgen.

Ätiologie

"66" Ursachen (WELLS u.Mitarb., 1966)



Untersuchungsgegenstand:



Reinigung, Zusammensetzung und intrazelluläre Verteilung der Pankreas-Phospholipase A

EC 3.1.1.4

Zahlreiche Methoden wurden erprobt zur Anreicherung und Reinigung bis hin zur Reindarstellung von Phospholipase A₂. Bei Verwendung von Pankreasgewebe als Enzymquelle empfiehlt sich die Aktivierung des Enzyms durch Verdauung mit Trypsin oder durch eine Autolyse bei 24°C. Daran schließt sich eine chromatographische Auftrennung an (ARNESJÖ u. Mitarb., 1971; BELLEVILLE u. Mitarb., 1968; de HAAS u. Mitarb., 1968; de HAAS, 1972; HANAHAN, 1971; MAGGEE u. Mitarb., 1971). Bei der Reinigung von Schlangengiften entfällt die Aktivierung durch Autolyse.

Bei Ratten sind 0,6% des Pankreassaftproteins freie und aktivierbare Phospholipase A (ARNESJÖ u. Mitarb., 1971). Beim Menschen ist sie höher konzentriert (ZIEVE u. Mitarb., 1967). Das Molekulargewicht der Phospholipase A aus *Crotalus atrox* und *adamanteus*, die für unsere Versuche verwendet wurde, mit $14\,500 \pm 500$ stimmt mit dem aus Schweinepankreas überein (ca. $13\,900 \pm 450$) (WU u. Mitarb., 1969; de HAAS u. Mitarb., 1968). Dies ist wichtig für zahlreiche Phänomene wie z.B. die Ausschwemmung aus dem Gewebe.

Die Schweinephospholipase besteht aus 129 Aminosäuren (das Zymogen-Heptapeptid mit eingerechnet); auffällig ist der hohe Gehalt an Cystein, das durch Ausbildung von 6 Disulfidbrücken (zwischen 18/83, 34/129, 68/98, 91/103, 7/7) zur ungewöhnlichen Thermostabilität des Moleküls beiträgt (YAMAGUCHI, 1973). Die Aufklärung der Sequenz gelang MAROUX et al. (1969). Eine ähnliche Zusammensetzung findet sich bei POSTEMA (1968) und Handbook of Biochemistry (1973). Die Phospholipase A wird nicht in aktiver Form sezerniert. Wie auch andere Pankreasenzyme gelangt sie als inaktiver Vorläufer, als Prophospholipase A₂, in den Pankreasgang und das Darmlumen (ARNESJÖ, 1968). Erst dort wird sie aktiviert und kann ihre Wirkung entfalten. Dies geschieht durch Trypsin, das ein N-terminales Heptapeptid abspaltet (Glu-Gly-Glu-Ile-Ser-Ser-Arg-).

In Frage käme auch eine Aktivierung durch die sog. Restprotease-Aktivität (Übersicht bei BECKER, 1973; NAGEL u. Mitarb., 1964; SCHÖN u. Mitarb., 1963). Dafür spricht das Vorliegen einer aktiven Phospholipase A im nekrotischen Pankreas (SCHMIDT u. Mitarb., 1967) bei gleichzeitigem Fehlen einer Trypsinaktivität (Übersicht bei BECKER, 1973). Auch das Vorliegen der Phospholipase A innerhalb der Drüse in bereits aktiver Form wird diskutiert (KLINGE u. Mitarb., 1974). Eine

Autoaktivierung, die diese Beobachtung ebenfalls erklären könnte, findet nicht statt (FIGARELLA, 1971 a).

Frisches Homogenat aus Schweinepankreas enthält nur eine geringe Aktivität an Phospholipase A. Erst durch die Zugabe von Trypsin (BELLEVILLE u. Mitarb., 1968; POSTEMA, 1968) oder durch eine Autolyse (15 Stunden bei 22°C) des Pankreashomogenats (de HAAS u. Mitarb., 1968) wird die größte Enzymaktivität erreicht. Ähnliche Beobachtungen wurden am Rinderpankreas gemacht (RIMON u. Mitarb., 1959). Trypsin führt nicht nur zu einer Aktivierung der Phospholipase A, sondern ist auch in der Lage, sie zu zerstören durch Aufspaltung in Peptide (ARNESJÖ u. Mitarb., 1971; BELLEVILLE u. Mitarb., 1968; DOIYAKI u. Mitarb., 1963). So nimmt nach einer gewissen Zeit die Phospholipase A₂ im autolytischen Pankreas wieder ab. Chymotrypsin wirkt nicht oder inhibiert die Aktivierung der Prophospholipase A zu Phospholipase A (FIGARELLA, 1971 a).

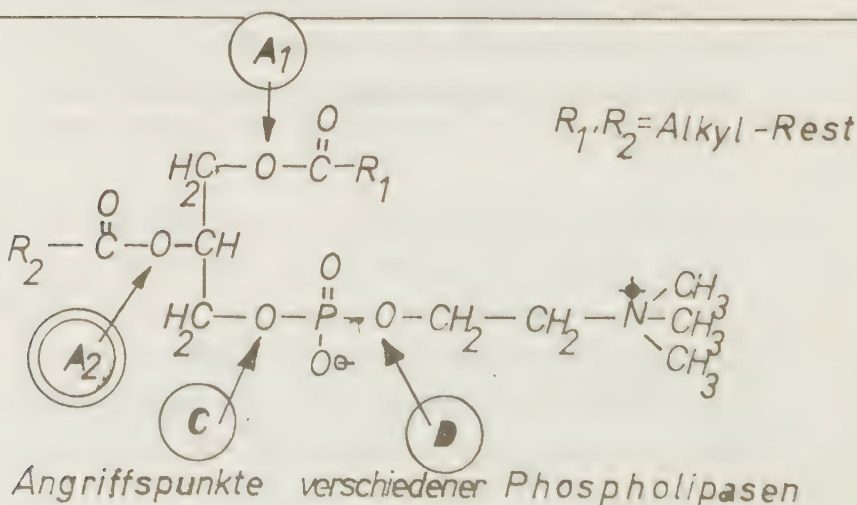
Die intrazelluläre Verteilung der Phospholipase A entspricht jener der Lipase und der übrigen Sekretionsenzyme: wie durch Autoradiographien gezeigt wurde, findet die Proteinsynthese im basalen Ergastoplasma statt. Von hier aus wandern die Enzymproteine in zwanzig bis dreißig Minuten zur Golgizone, wobei

die schwach gefärbten **condensing vacuoles** der Dictyosomen zu elektronendichten Zymogengranula werden. Diese wandern in dreißig bis sechzig Minuten zum apikalen Pol der Zelle und werden durch einen Membran-Fusions-Fissions-Vorgang in das intralubuläre Lumen exozytiert (ARNESJÖ, 1971; FEDOU, 1963; v. HEYNINGEN, 1964; HOKIN, 1967; JAMIESON u. Mitarb., 1971; WARSHAWSKY u. Mitarb., 1963). Die Ausschleusung benötigt "oxydative Energie" (JAMIESON u. Mitarb., 1971) und findet nur bei einem pH über 7,2 statt (HOKIN, 1955).

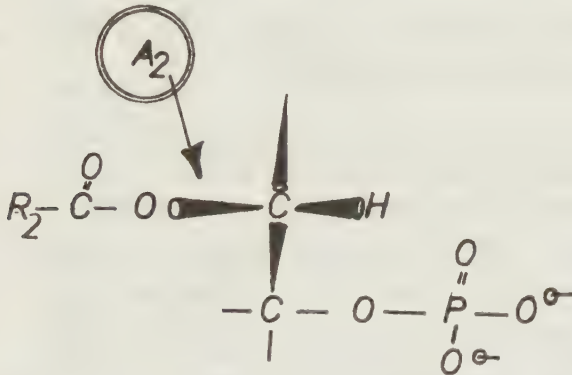
Neben dieser Prophospholipase A_2 findet sich eine Phospholipase A_1 vorwiegend in den Zytomembranen. Ihre Aktivität ist wesentlich geringer und wird auch durch die Inkubation mit Trypsin nicht erhöht, so daß sie lange "im Schatten ihrer großen Schwester" unbekannt blieb (ARNESJÖ, 1971; BELLEVILLE u. Mitarb., 1969). Ob sie ein Sekretionsenzym ist, bleibt noch zu klären.

Physikalisch-chemische Eigenschaften der pankreas- und Sciangengiftphospholipasen

Die bisher beobachteten Phospholipasen sind sehr temperaturresistent. Sechs (HANAHAN, 1971) bzw. sieben (de HAAS u. Mitarb., 1972; POSTENA, 1968) halten das Protein fest zusammen. Durch Erhitzen bleibt im Pankreassaft nur noch die Phospholipase A aktiv. Auch das Proenzym widersteht in Abwesenheit von Calcium einer Temperatur von 75°C (ARNESJÖ u. Mitarb., 1971). Enzymologisch gehören sie zu den Hydrolasen; sie greifen an Phosphoglyceriden an typischer Stelle an: die Phospholipase A₁ an der alpha-Stellung, die Phospholipase A₂ an der beta-Position des Lecithinmoleküls. Beide Phospholipasen sind klassifiziert als EC 3.1.1.4



Die Spezifität ist nicht auf das Substrat, sondern in erster Linie auf die Bindung und die sterische Konfiguration gerichtet. Für Schweinepankreas-Phospholipase A₂ ergibt als "minimal substrate requirements" folgende Struktur:



minimal requirements

(BONSEN u. Mitarb., 1972 a, b; v. DEENEN u. Mitarb., 1963).

Zahlreiche im menschlichen und tierischen Körper vorkommende Phospholipide können (für sich allein genommen) von Phospholipase A₂ angegriffen werden; unter anderem sind dies Lecithin, Phosphatidyläthanolamin, Kephalline, Plasmalogen, Phosphatidsäure, Phosphatidylglycerol und Diphosphatidylglycerol (= Cardiolipin)

(de HAAS u. Mitarb., 1963; WOELK u. Mitarb., 1971). sie sind alle mehr oder minder wesentliche Bestandteile von Zell- und anderen biologischen Membranen. Selbst in der Natur nicht vorkommende Phospholipide, wie ein symmetrisches beta-Lecithin (de HAAS u. Mitarb., 1963) und, sogar abweichend von obiger Regel, Phosphonolecithine (BONSEN u. Mitarb., 1972) werden unter gewissen Bedingungen gespalten.

Unterschiede in der Reaktionsgeschwindigkeit bei der Hydrolyse einzelner Phosphoglyceride sind abhängig von deren Struktur und von der Enzymquelle. So spaltet die Phospholipase A₂ aus dem Gift von *Crotalus atrox* bevorzugt basische Phosphoglyceride. Die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Hydrolyse von Phosphatidylcholin ist größer als bei -äthanolamin, und noch geringer ist sie bei Plasmalogenen (WOELK u. Mitarb., 1971; MOORE u. Mitarb., 1963). Phospholipase A₂ aus Mensch, Hund und Ratte hydrolysiert Kephaline leichter als Lecithine (BELLEVILLE u. Mitarb., 1969). Bemerkenswert ist die Fähigkeit von Phospholipase A aus Schlangengift, menschlichen und bovinem Pankreassaft auch den Phospholipidanteil von Lipoproteinen rasch und vollständig aufspalten zu können (CONDREA u. Mitarb., 1969; KLIBANSKY u. Mitarb., 1963; MARINETTI, 1961, 1965). Diese lipoproteingebundenen Phospholipide können auch ohne die

Anwesenheit von Taurocholat hydrolysiert werden. Der Angriff erfolgt sowohl *in vitro* als auch *in vivo*. Auch bezüglich der Substratspezifität bestehen große Ähnlichkeiten zwischen Schlangengift-Phospholipase A und menschlichem Enzym.

Die meisten der bisher beobachteten Phospholipasen benötigen zu ihrer Wirkung Calciumionen. Der Calcium-entzug durch den Komplexbildner EDTA hemmt die Enzymaktivität fast vollständig. Andere zweiwertige Ionen (Zn^{2+} , Ca^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Ag^{2+}) wirken nur schwach kompetitiv hemmend (BJORNSTAD, 1966 a, b; BONSEN u. Mitarb., 1972 b; de HAAS u. Mitarb., 1968; PIETERSON, 1974; WOELK u. Mitarb., 1971). Nach MAGGEE soll hingegen die menschliche Pankreas-Phospholipase A_2 durch Calciumionen gehemmt werden (MAGGEE u. Mitarb., 1961; abgelehnt von HANAHAN, 1971). Auch eine Substrathemmung durch Lecithin ist bekannt; sie wird deutlich erfassbar bei Konzentrationen über 3 mM (ungefähr 0,25%) (ARNESJÖ u. Mitarb., 1971).

Zahlreiche kompetitive Hemmer der Phospholipase A_2 wurden entwickelt und *in vitro* getestet (BONSEN u. Mitarb., 1972 a; ROSENTHAL u. Mitarb., 1970). Pharmakologisch wurden sie bislang nicht erprobt. Eine fragliche Inhibition nach Inkubation mit dem Kunitzinhibitor

und Polyphlorethinphosphat beobachteten ARNESJÖ u. Mitarb. (1971).

Eine Erhöhung der Umsatzgeschwindigkeit bei gleicher Phospholipase-A-Menge gelingt durch die Herabsetzung der Tröpfchengröße der Emulsion des Substrats; so erhöht die Bestrahlung der Lösung mit Ultraschall die Reaktionsgeschwindigkeit. Ähnlich wirken Detergentien wie z.B. Gallensäuren. Die aktivierende Wirkung der Gallensalze auf die Phospholipase-A-Aktivität ist seit langem bekannt (ARNESJÖ u. Mitarb., 1971; BELLEVILLE u. Mitarb., 1968; COLEMAN u. Mitarb., 1964; de HAAS u. Mitarb., 1968; LANKISCH u. Mitarb., 1972). Ohne Gallensalze ist die Phospholipase A₂ aus Rattenpankreas gegenüber micellar gelöstem Lecithin fast nicht aktiv. Erst wenn die Lecithinlösung so mit Gallensalzen versetzt ist, daß eine wasserklare Lösung daraus entsteht, ist das Reaktionsoptimum erreicht. Dabei ist unbekannt ("poorly understood"), wie die Gallensalze auf die für Enzymwirkungen eminent wichtige Feinstruktur der Lipid-wasser-Zwischenfläche auf molekularer Ebene wirken (BONSEN u. Mitarb., 1972 b).

Auch eine Behandlung der Lipidlösung mit Ultraschall, die zu einer Änderung des Lecithin-Sols führt, erhöht die Wirksamkeit zugesetzter Phospholipase A₂ (JAIN u. Mitarb., 1973; JAIN, 1973; ATTWOOD u. Mitarb., 1966).

stoffe mit Detergentienwirkung, wie Lysolecithin und Saponine (LANKISCH, 1972), Äthanol (BERNARD, 1972), Äther (BONSEN u. Mitarb., 1972 b), verschiedene Salze (BELLEVILLE u. Mitarb., 1968 b) und eine Bindung an Proteine (MARINETTI, 1964, 1965), erhöhen die Angreifbarkeit der Phosphoglyceride durch Phospholipase A₂. Welche Rolle die dadurch veränderte micellare Größe der Phospholipidaggregate in der Inkubationslösung spielt, wird deutlich aus der Beobachtung, daß sehr kurzkettige Lecithine, die in Wasser isotrope, micellare Lösungen bilden, auch in Abwesenheit von Gallensalzen oder Äther rasch hydrolysiert werden (de HAAS u. Mitarb., 1970).

Pharmakodynamik des verwendeten Versuchsaufbaus.

"Der Pathologe sieht von der Pharmakodynamik meist nur die negativen Auswirkungen. Er sieht die entwurzelten Bäume nach einem durchgezogenen Gewittersturm." (LEMBECK, 1972). "Die Fähigkeit der Gewebe auf chemische Einflüsse zu reagieren ist beschränkt" (ZBINDEN, 1972). Deshalb muß einiges in dieser Betrachtung hypothetisch bleiben.

Am klarsten sind die Verhältnisse bei den Hodenversuchen mit Lysolecithin zu überblicken: eine bestimmte Lysolecithinmenge wird ins Gewebe injiziert. Die darauf folgende Reaktion ist abhängig bei Lysolecithin von der Einwirkungsdauer (GRAMP u. Mitarb., 1972) und in geringerem (PHILLIPS u. Mitarb., 1965) oder stärkerem Maße von der Konzentration des verwendeten Lysolecithins, wobei die Konzentration wiederum eine Funktion der Zeit ist (allgemein bei GIADTKE u. Mitarb., 1973; KLIBANSKY u. Mitarb., 1963 a; WILKINSON u. Mitarb., 1968). Eine vereinfachte Formel für diesen Zusammenhang ist

$$\frac{dC}{dt} = -k \cdot C$$

wobei k die Invasionskonstante des eingebrachten Stof-

fes aus dem Gewebe in die Blutbahn darstellt (DOST, 1968; JANKU, 1971) (C = Konzentration, t = Zeit). Letztere ist abhängig von der Ausschwemmung des Lysolecithins aus dem Versuchsorgan durch die Lymphe und die Reabsorption in die venösen Schenkel der Kapillaren und Venolen bei der dauernden Erneuerung der extrazellulären Flüssigkeit (RAPOPORT, 1969). Aus dem Blut selbst verschwindet das absorbierte Lecithin sehr rasch: die Halbwertszeit für intravenös injiziertes Lysolecithin beträgt bei Ratten 11 Minuten. Der bevorzugte Reaktionsweg ist dabei die Wiederveresterung mit Fettsäuren (STEIN u. Mitarb., 1966).

Auch die Diffusion in die Umgebung und die damit verbundene Verdünnung, sowie die Bindung an Albumin und andere Proteine (KLOPFENSTEIN, 1969), an nekrotisches Zellmaterial und Erythrozyten (KLIBANSKY u. Mitarb., 1963), vermindert die biologische Wirksamkeit des gebildeten oder injizierten Lysolecithins. Daneben kommt es zu einer Abnahme seiner Konzentration durch die Wirkung einer Lysolecithinase/Phospholipase B. Aus diesen Gründen eignen sich nicht alle Gewebe für die Austestung der Phospholipase-A- oder Lysolecithin-Wirkung gleich gut.

In Vorversuchen, bei denen diese Substanzen in die Rattenleber injiziert wurden, entstanden keinerlei

Nekrosen. Offensichtlich ist die Invasionskonstante aus der Leber ins Blut so groß, daß zu keinem Zeitpunkt eine zytotoxische Wirkung aufgetreten ist. Eigene Versuche, bei denen wir bei vier Ratten je 0,05 ml einer konzentrierten Giemsa'schen Farblösung in einen Leberlappen injizierten, zeigen, daß bereits nach fünf Minuten eine starke Verminderung der Farbstoffkonzentration erfolgt ist, und nach 15 Minuten keine Färbung mehr nachweisbar ist. Da sich keine Anfärbung der großen Gallenwege zeigt, dürfte der größte Anteil der Farbstofflösung durch den Blutstrom ausgeschwemmt worden sein. Auf das rasche Verschwinden von (versehentlich) intraparenchymal injizierten Kontrastmittels bei der transhepatischen Cholangiographie sei verwiesen. Neben der starken Durchblutung der Leber und vielleicht einer Ausschwemmung über die Gallenwege dürfte daneben noch der Reichtum der Leber an Phospholipase B eine Rolle spielen. Dieses Enzym spaltet eingebrachtes oder entstandenes Lysolecithin sehr rasch zu Glycerophosphorylcholin, einem harmlosen Metaboliten (DAWSON, 1963; BJORNSTAD, 1966 a, b, c; COLEMAN, 1964; MARPLES u. Mitarb., 1960; ROBERTSON, 1966). Die Lysolecithinase-Aktivität ist dabei bevorzugt an Microsomen gebunden (ROSSI u. Mitarb., 1965; SCHERPHOF u. Mitarb., 1965).

Interessant erscheint in diesem Zusammenhang, daß tryptische Nekrosen bei der akuten Pankreatitis in der

Leber (nur?) auftreten, wenn neben einer funktionellen Ausschaltung der Gallenblase auch die Durchblutung des Organs und damit die Invasionskonstante vermindert ist. Im Fall von BECKER (1964 c) war dies ein protrahierter Kreislaufkollaps, von RUDOLPH (1906) ein Herzfehler, der eine ausgeprägte Stauungsleber entstehen ließ. Auch bei der experimentellen, tryptischen Pankreatitis, die zu Lebernekrosen geführt hat, scheint es aus bislang nicht erkannten Gründen zu einer Leberstauung zu kommen. WANKE u. Mitarb. (1965) konstatieren in ihren Versuchen eine Weitstellung der sublobulären und Zentralvenen; andere Verfasser sprechen von einer passiven Kongestion (ANDERSON u. Mitarb., 1964; DOS REIS, 1963; FOLEY u. Mitarb., 1964).

Unsere Versuche zeigen bei ungefähr 60% der experimentell erzeugten Pankreatitiden des Schweregrades 2 und 3 auch eine Mitbeteiligung der Leber in Form von Leberparenchymnekrosen. Es sind dabei stets größere Epithelverbände betroffen, wobei die vom Blutstrom schlechter versorgten Gebiete unter der Leberkapsel bevorzugt betroffen werden. In einigen Nekrosen werden auch die v. KUPFFER'schen Sternzellen zerstört. Die Lebersinusoiden sind sehr weit und hyperämisch. Größere Gefäße zeigen einen Fibrinniederschlag an ihren Wänden. Die Erythrozyten sind zum sludge zusammengeballt. Da sich

daneben noch leukozytär durchsetzte Einzelzellnekrosen im Bereich der Zentralvenen finden, liegt es nahe, Zirkulationsstörungen, bedingt durch einen protrahierten Kollaps, anzunehmen. Bei unseren Versuchen finden sich Leberparenchymnekrosen nur, wenn eine Zirkulationsstörung besteht. Welche Rolle hierbei die Hypoxie spielt und welchen Anteil daran aufsteigende Pankreasenzyme haben, geht aus unseren Experimenten nicht hervor.

Wir lassen ein Schema der Lysolecithinkinetik folgen.

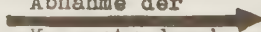
Schematische Darstellung der Lysolecithinwirkung und
-kinetik

injektion von
Lysolecithin



Lysolecithinkonzentration im
Gewebe

Abnahme der
Konzentr. durch



Auswascheffekt durch
Blut und Lymphe

Abbau durch Lysocleithinasen

Aufbau zu Lecithin

Bindung an
Proteine, Zellen

Inaktivität durch
ungünstige Lage,
z.B. in nekrotischem
Material



Wirkung auf
Zellen



Wirkung auf die
Blutversorgung



Kern, Mitochondrien,
ER, Zellmembran

Bei der Injektion von Phospholipase A gestalten sich die Verhältnisse komplizierter: da nach allgemeiner Ansicht die Phospholipase A selbst nicht toxisch für gewaschene Zellen ist, muß die Wirkung über entstandenes Lysolecithin erfolgen (HABERMANN u. Mitarb., 1962; ROTESCHILD, 1965; UVNÄS, 1962). Diese Phospholipide dürfen nicht an Zellen gebunden sein, sondern müssen frei in der Flüssigkeit des Interstitiums vorhanden sein.

Damit eine Phospholipase-A-Lösung Nekrosen erzeugt, müssen also folgende Bedingungen erfüllt sein:

1. ein entsprechend hoher Phospholipidspiegel im Interstitium;
2. die Injektion einer entsprechend großen Phospholipase-A-Aktivität, damit die Bildungsgeschwindigkeit von Lysolecithin größer ist als die Abflutgeschwindigkeit;
3. die Durchblutung und damit die Invasionskonstante ins Blut muß gering sein;
4. das Testgewebe muß ähnliche Eigenschaften wie das Pankreas aufweisen;
5. es sollte aus experimentellen Gründen leicht zugänglich sein.

Die Durchblutung der Testes ist nicht sehr groß (SETOHELL, 1970). Im normalen histologischen Bild sind nur vereinzelte Arterien zu erkennen, die Zahl der dünnwandigen Venen und Kapillaren ist größer, ebenso die drainierenden Lymphgefäße. Auch die für die Funktion des Hodens notwendige unter der Körpertemperatur liegende Organ-temperatur ist ein Zeichen für die nicht sehr starke Durchblutung (BARGMANN, 1967; BLOOM u. Mitarb., 1968; STIEVE, 1930; TAMM, 1973). Dadurch bleibt die Invasionskonstante gering und weder Phospholipase A noch das entstandene Lysolecithin wird vorzeitig ausgeschwemmt. Experimente an vier Rattenhoden, bei welchen je 0,1 ml einer konzentrierten Giemsa'schen Lösung zentral in den Testis injiziert wurde, zeigen eine geringe Ausschwemmung des Farbstoffes. Nach 30 Minuten war das Farbstoffdepot noch in gleicher Form und Größe (an Hand von Makrophotographien bestimmt) erhalten und erst bei Versuchsende nach drei Stunden zeigte sich eine ganz schwache Anfärbung des Rete testis. Daraus ist zu entnehmen, daß in den Hoden eingebrachte Substanzen nur sehr langsam aus dem Parenchym ausgewaschen werden. Als Versuchsgewebe für die Austestung der lokalen Wirkung toxischer Stoffe ist er deshalb besonders gut geeignet.

Im Hoden des Menschen ist zwar eine Phospholipase A₂ und eine Phospholipase B (= Lysolecithinase) nachge-

wiesen, aber sie dürften keinen Einfluß auf den Versuch haben, da sie sowohl eine ausgeprägte Substrathemmung als auch eine starke Hemmung durch Gallensäure haben. Phosphatidylcholin wird praktisch nicht gespalten (KUNZE u. Mitarb., 1971, 1974; POULOS u. Mitarb., 1973).

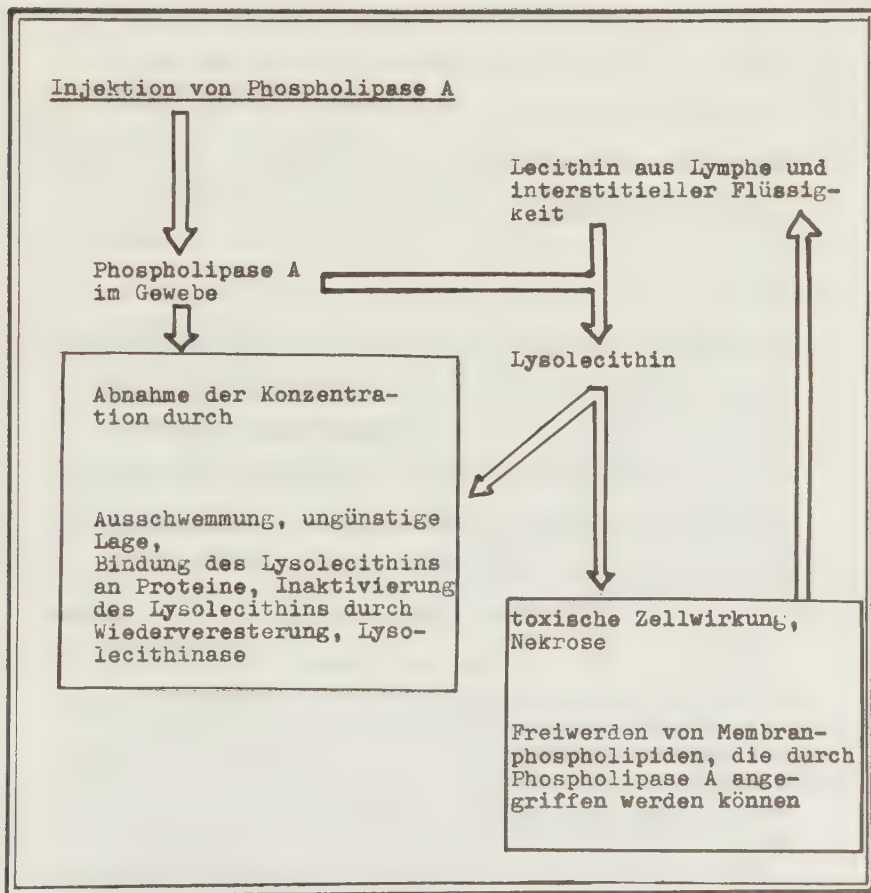
Der Hoden als Vorversuchsgewebe für das Pankreas bietet sich an, weil zwischen Pankreas und Hoden sowohl in Bezug auf die Gesamtkonzentration als auch in Bezug auf die Zusammensetzung des Phospholipidspektrums weitgehende Ähnlichkeit herrscht: Die Gesamtkonzentration an Phospholipiden ist ca. 0,6 mg/gr Feuchtgewicht; der überwiegende Teil davon ist Phosphatidylcholin (Pankreas 47%; Hoden 46,8%), gefolgt von Phosphatidyläthanolamin (Pankreas 9,9%; Hoden 14,8%) und Phosphatidylserin (Pankreas 5,3%; Hoden 6,38%). Berechnete Werte aus SCOTT u. Mitarb. (1963, 1968); ANSELL u. Mitarb. (1964).

Das extravaskuläre interstitielle Gewebe ist sehr flüssigkeitsreich. Über seine Phospholipidkonzentration bestehen keine näheren Angaben. Wahrscheinlich beträgt hier die Phospholipidkonzentration ca. 100 - 200 mg% wie in übrigen Körperflüssigkeiten: Peritonealtransudat 164 mg% (HALSE, 1953). Für übrige nichtentzündliche Ergüsse geben BRUNS u. Mitarb. (1924) eine Konzentra-

tion von 60 - 150 mg% an. Die intratubuläre Flüssigkeit hingegen ist wahrscheinlich arm an Phospholipiden: nach MANN (1975) soll ihre Konzentration bei Kindern 9 mg% betragen. Testikuläre Lymphe enthält 27,3 - 58,8 mg% Phospholipide (WALLACE u. Mitarb., 1964).

Die unmittelbar von der injizierten Phospholipase A angreifbaren Phospholipide sind entscheidend für das Auftreten einer Nekrose (über die Wirkung von Lysolecithin). Phospholipide aus nekrotischen (und nekrobiotischen?) Zellen können durch Phospholipase A angegriffen werden und stellen damit einen wesentlich größeren Phospholipidpool dar, als die interstitielle Flüssigkeit. Wir lassen ein Schema der Phospholipase-A-Wirkung auf den Hoden folgen.

Schematische Darstellung der Phospholipase-A-Wirkung
auf den Hoden und die Kinetik dieser Versuche



Die Versuche mit Phospholipase A

Wirkung der Phospholipase A auf Gewebe, Zellen und subzelluläre Partikel in Pufferlösungen

Am besten untersucht ist die Wirkung der Phospholipase A auf menschliche oder tierische Erythrozyten, weil sie als Modell einer Zelle sehr leicht zugänglich sind. Als mögliches Substrat für die Wirkung dieses Enzyms dient die sehr komplexe Mischung aus Phospholipiden ihrer Membran als auch ihres Stromas. Zum überwiegenden Teil bestehen diese Phospholipide aus Lecithin (Stroma 30%, Ghost 36%), gefolgt von Phosphatidyläthanolamin und Sphingomyelin (DAWSON u. Mitarb., 1960; de GIER u. Mitarb., 1961). Nach dem auch heute noch für am wahrscheinlichsten gehaltenen Modell der Zellmembran werden diese Lipide nach außen und nach innen durch eine monolayer Protein begrenzt (DANIELLI u. Mitarb., 1935).

Vermutlich sind es diese Proteine, die einen Angriff der Phospholipase A auf mehrfach gewaschene Erythro-

zyten in isotonen Medium verhindern. Die Phospholipase A gilt deshalb nur als indirektes Hämolysin (BONTA u. Mitarb., 1972; HABERMANN u. Mitarb., 1962; LANKISCH u. Mitarb., 1971; LANKISCH u. Mitarb., 1972a, 1972b; MOLLAY u. Mitarb., 1974; VOGT u. Mitarb., 1970).

Völlig spurlos bleibt aber diese Einwirkung auch nicht: als Andeutung eines Effekts wurde beobachtet, daß die Erythrozyten größer werden und daß sie auch in geringerem Maße Fettsäuren freisetzen (CONDREA u. Mitarb., 1964; LANKISCH u. Mitarb., 1971). Eine echte Hämolyse findet nicht statt. Nur die pathologisch veränderten Erythrozyten bei der kongenitalen Sphärocytose werden durch Phospholipase A in isotoner Lösung angegriffen. Es tritt eine unterschiedlich ausgeprägte Hämolyse auf (LANKISCH u. Mitarb., 1972a). Erythrozyten in einer hypotonen Lösung, die selbst zwar nicht hämolytisch wirkt, aber zu einer Schwellung des Erythrozyten führt, erleiden unter Zusatz von Phospholipase A eine rasche Hämolyse.

Ein ähnliches Phänomen ist am Pankreas bekannt: Pankreasgewebe, das unter gewissen Versuchsbedingungen von Trypsin in vitro nicht angegriffen wird, zeigt unter der gleichzeitigen Gabe von Malonsäure oder Monojodacetat (die selbst nicht lytisch wirken) eine Gewebszersetzung (BECKER u. Mitarb., 1963). Auch in vivo führt eine Stoffwechselsenkung, durch Arterien-

ligatur (BECKER, 1954; BLOCK u. Mitarb., 1954; IHMANN, 1955; SCHMITZ-MOORMANN u. Mitarb., 1967, 1970) bei einem Rückstau des Pankreassaftes zu einer Pankreatitis. Allen diesen Versuchen ist gemeinsam, daß die energetische Situation der Zelle verschlechtert ist oder wird. Bei der Kugelzellanämie ist der Energiestoffwechsel der Zelle einer vermehrten Belastung ausgesetzt, da die Zellmembran für Na-Ionen vermehrt durchlässig ist und die Ionenpumpe eine höhere Leistung erbringen muß (FÖLSCH u. Mitarb., 1972). - Monojodacetat ist ein starker Hemmer der Phosphoglycerinaldehyd-Dehydrogenase, dem Schlüsselenzym der Glykose. Durch seinen Ausfall ist die Energiegewinnung aus Glukose nicht mehr möglich. - Malonat hemmt die Atmungskette (RAPOPORT, 1969). Auch die Arterienligatur wirkt über eine energetische Mangelsituation: die Zellen erhalten zu wenig Sauerstoff und Substrat, das sie zur Energiegewinnung verwenden können.

Um eine Hämolyse in isotoner Lösung zu erreichen, wurden zahlreiche Stoffe angewendet, die die Wirkung der Phospholipase A erhöhen. Gemeinsam ist ihnen die Wirkung auf die Zellmembran entweder auf Grund biologischer Eigenschaften, wie bei Prymnesin, DLF, Melli-tin und Polymyxin (KLIBANSKY u. Mitarb., 1968; LANKISCH u. Mitarb., 1972a; MOLLAY u. Mitarb., 1974);

oder sie wirken auf Grund rein physikalischer Eigenschaften als Detergens. Sowohl freie wie auch konjugierte Gallensäuren, Saponine, detergentienartig wirkende kleine Peptide mit basischer Ladung und lipophilen Seitenketten, als auch synthetische Stoffe, wie Triton-X-100, verstärken die Wirkung der Phospholipase A (KLIBANSKY u. Mitarb., 1963; LANKISCH u. Mitarb., 1972; VOGT u. Mitarb., 1970).

Ähnlich wie die Erythrozyten verhalten sich die Mastzellen: reine Phospholipase A ohne zusätzliche Stoffe bleibt auf gewaschene Mastzellen ohne Wirkung. Eine Degranulation tritt nicht ein (BREITHAUPT u. Mitarb., 1968; FREDHOLM u. Mitarb., 1967a, b; HÖGBERG u. Mitarb., 1960; ROTHSCCHILD, 1965). Zusammen mit anderen Stoffen, wie Kallikrein oder Mellitin, kommt es zur Histaminfreisetzung (OFSTAD, 1970; OFSTAD u. Mitarb., 1969).

Auch andere Zellen oder in Pufferlösung gewaschene Organe wie Leber, Nieren oder Muskulatur des Rattendiaaphragmas werden durch Phospholipase A weder in morphologischer noch in funktioneller Hinsicht beeinflusst (IBRAHIM^{u. Mitarb.}, 1964; Mc ARDLE u. Mitarb., 1960). Die Beobachtungen von NECHELES u. Mitarb. (1926), die Niere, Leber und Milz ins Duodenum einnähten und

selbst nach längerer Zeit keine Nekrosen beobachten konnten, zeigen, daß "gesundes Gewebe" durch kein gastrointestinales Enzym, also auch nicht durch Phospholipase A, angegriffen werden kann.

Eine Ausnahme macht das Gehirn: es wird durch Phospholipase A rasch und auch ohne zusätzliche Stoffe zerstört, wie man an inkubierten Hirnschnitten feststellte (Mc ARDLE u. Mitarb., 1960). Es war aber den Autoren nicht möglich, eine Hirnzellsuspension der Phospholipase A zu unterwerfen. Da bei ihren Versuchen freie Fettsäuren entstanden, mußten auch lyso-Verbindungen entstanden sein, die zur Nekrose und Auflösung des Gewebes führten. Den gleichen Effekt konnten die Verfasser in vivo nachweisen: durch intrathekale Injektion von Phospholipase A wurden Läsionen gesetzt, die Ähnlichkeit mit einer Encephalomyelitis disseminata hatten. Interessant ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung von VOGEL (1951), der bei Pankreatitis und fehlender Fettembolie herdförmige Myelinverluste feststellte. Literatur über zahlreiche Schlußfolgerungen bei THOMPSON (1959), SCHEID (1966).

Im Gegensatz zu lebenden Zellen können subzelluläre Partikel leicht von Phospholipase A angegriffen werden. In niedriger Konzentration erhöht Phospholipase A die

mitochondriale Atmung (1,2 mg PLA/g Mitochondrien), in höherer Konzentration kommt es zu einer hochgradigen Hemmung der Atmung und Entkopplung der oxydativen Phospholyrierung. Diese Schädigung ist wahrscheinlich irreversibel (AUGUSTYN, 1970; WILKINSON u. Mitarb., 1969).

Morphologisch sind Mitochondrien nach Phospholipase-A-Einwirkung gekennzeichnet durch eine Wassereinlagerung mit konsekutiver Schwellung. Der Inhalt des Mitochondrium geht verloren, ein Rest davon bleibt in der Nähe der Membran liegen. Sie sind nur noch "Konglomerate von membranösen Bläschen", die ihre elliptische und runde Gestalt beibehalten. Die Sedimentationskonstante ändert sich dabei nicht (DOBIASOVA u. Mitarb., 1971).

Dieses Phänomen ist an sich nicht ungewöhnlich und keinesfalls spezifisch für die Phospholipase A. Es stellt den Vorgang der trüben Schwellung am isolierten Mitochondrium dar. LETTERER (1959) spricht von regressiver, katabiotischer Dystrophie. Auch durch zahlreiche andere Stoffe, die in den Energiestoffwechsel der Zelle eingreifen, läßt sich diese Schwellung hervorrufen. Eine Verbesserung der Energiebilanz, etwa durch Zufuhr von ATP, schwächt den Effekt der Phospholipase A am Mitochondrium ab und

durch Atmungsgifte wird ihre Wirkung verstärkt (DOBIASOVA u. Mitarb., 1971; SARIS u. Mitarb., 1970).

Die Phospholipide der Membran werden quantitativ in lyso-Phosphatide überführt. Welche Bedeutung dies für die Struktur der Membran von Mitochondrien hat, ist unklar. GREEN (1964) hält sie für völlig untergeordnet; zahlreiche andere Autoren betrachten sie für essentiell (BRIERLEY u. Mitarb., 1962; DAY u. Mitarb., 1969; LESTER u. Mitarb., 1961; ROSSI u. Mitarb., 1964). Lysolecithin allein zeigt keine so ausgeprägten Effekte wie Phospholipase A auf subzelluläre Partikel.

Phospholipase A wirkt auch auf die Membran von Lysosomen. Dies ist umso erstaunlicher, als das Enzym selbst auch lysosomaler Herkunft ist (STOFFEL, 1966). Phospholipase A ist dabei das wirksamste Enzym, dessen Zusatz zu einer Lysosomenpräparation in vitro eine Freisetzung der eingeschlossenen Enzyme bewirkt (BEAUFAY u. Mitarb., 1959). Es ist vorstellbar, daß auch Membranen der Zymogengranula durch Phospholipase A aufgelöst werden. Daneben wirkt Phospholipase A auch auf andere Plasmamembranen und hydrolysiert deren Phospholipide, wie Untersuchungen an Leberzellen von Ratten ergeben (GALLAI-HATCHARD, 1968).

Wirkung von Phospholipase A auf das Pankreas in vivo.
Phospholipase-A-Grundversuch. Fettgewebnekrosen.

Seit der Schlüsselarbeit von CREUTZFELDT, SCHMIDT, LINNEWEH (1966), die als erste die Phospholipase A in Zusammenhang mit der Entstehung der akuten Pankreatitis brachten, sind zahlreiche Arbeiten erschienen, die ihre Versuche wiederholten und modifizierten (ANDERSON u. Mitarb., 1969; Übersichten bei BECKER, 1973; CREUTZFELDT u. Mitarb., 1970; GJONE u. Mitarb., 1967, 1969; HAGEN u. Mitarb., 1969; HASHIHARA u. Mitarb., 1971; PAPP u. Mitarb., 1973; SCHMIDT, 1969, 1970; SCHMIDT u. Mitarb., 1967; WANKE u. Mitarb., 1968; 1976; WESTPHAL, 1970). Fast alle Autoren stellen fest, daß sich nach der Injektion von Phospholipase A in den Ductus pancreaticus verschiedener Tiere nur kleinflächige Nekrosen bilden, die zudem ziemlich weit voneinander entfernt sind.

Auch unsere eigenen Versuche zeigen nur eine geringgradige Ausprägung der Pankreasnekrosen. Eine gewisse Schädigung ist sicher eingetreten, wie aus dem blutig tingierten Aszites und den Fettgewebnekrosen zu entnehmen ist, die sich auch entfernt vom Pankreas und damit einer etwaigen mechanisch-operativ bedingten

Schädigung befinden. Sie zeigen einen Schaden am Pankreas an, auch wenn ihre Ausprägung kein Maß für die Schwere einer Pankreatitis darstellt (BECKER, 1957; DUPERRAT u. Mitarb., 1963; GROSSMAN, 1955; POWERS, 1955; STEINBERG, 1955; THEVE, 1972). Fettgewebsnekrosen als Indikator einer teilkompensierten Pankreasschädigung: Pankreatitis ersten Schweregrades (BECKER, 1973).

Bevorzugte Lokalisation dieser Fettgewebsnekrosen ist das Fett am Mesenterium in Darmnähe und das bei der Ratte sehr stark ausgeprägte Nebenhodenfettgewebe. Retroperitoneales Fettgewebe wird praktisch nicht angegriffen. Entgegen den Beobachtungen von STORCK (1971) und STORCK u. Mitarb., (1972), die bereits zwölf Stunden nach der Erzeugung einer Taurocholatpankreatitis eine Calciumablagerung in Fettgewebsnekrosen feststellen konnten, sehen wir selbst nach 24 und 72 Stunden keine Kalkseifenbildung. Nach BECKER (1973) tritt beim Menschen die Abnahme des Serum-Calciums unter Kalkseifenbildung erst um den 10. Tag der Erkrankung auf.

Der Zusammenhang zwischen Pankreatitis und Fettgewebsnekrose ist nicht ganz klar: einerseits ergeben Versuche in vitro, daß die Pankreaslipase für die Entstehung von Fettgewebsnekrosen verantwortlich sei

(NEAL u. Mitarb., 1930; STORCK, 1971), dagegen werden Untersuchungen von AUGER (1947), der die Hyperlipasämie als ursächlich für die Entstehung von Fettgewebsnekrosen ansieht, von SARLES u. Mitarb. (1976) abgelehnt. Injektion von Lipase ins subkutane Fettgewebe führt zu keinen Fettgewebsnekrosen (AUGER, 1947; BAUM, 1959). GEOKAS u. Mitarb. (1969) sprechen von einem multifaktoriellen Geschehen und betonen hormonale Wirkungen.

Interessant ist die These von THEVE (1972), der zeigen konnte, daß der enzymreiche Aszites von Tieren mit experimenteller Pankreatitis nicht in der Lage ist, bei Injektion in das Abdomen gesunder Tiere Fettgewebsnekrosen hervorzurufen. Die Drainage eines Aszites bei Pankreatitis verhindere das Auftreten von Fettgewebsnekrosen nicht. Dieser Verfasser hält vielmehr die Aktivierung einer hormonsensitiven Lipase im Fettgewebe für wahrscheinlich: Fettgewebsnekrose als überschießende Lipolyse. Dafür spricht das Ansteigen der Lipidkonzentration im Blutserum nach experimenteller Pankreatitis (BRAUNSTEINER, 1968; GEOKAS u. Mitarb., 1969; PAULSON, 1969; ZIEVE, 1968). Diese transitorische Hyperlipidämie ist durch Verlaufsbeobachtung deutlich zu unterscheiden von einer primären Hyperlipidämie, die zu einer Pankreatitis geführt hat.

entscheidend für unsere Betrachtung ist weniger der Mechanismus, wie die Fettgewebsnekrosen bei Pankreatitis zustande kommen, sondern daß sie als Indikator für eine Störung der Pankreasfunktion gewertet werden können, die nicht durch die mechanische Schädigung durch Operation oder Injektion einer Flüssigkeit in den Ductus pancreaticus entstanden ist. Fettgewebsnekrosen brauchen nicht einen geringeren Fermentaustritt anzuzeigen, wohl aber die Unverdaubarkeit durch einen guten Erhaltungszustand des Pankreashistions (BECKER, 1973).

Bei der Injektion des gleichen Volumens physiologischer Kochsalzlösung in den Ductus pancreaticus finden sich bei unseren Versuchen keine Fettgewebsnekrosen, geschweige denn eine Schädigung des Pankreasparenchyms selbst; und auch die Instillation einer 30%igen Glycerinlösung (gleicher Glyceringehalt wie in der benutzten Phospholipase-Lösung) führt zu keinem Effekt.

Azinusnekrosen als Folge von Fettgewebsnekrosen:

Pankreasepithelien, die zufällig in der unmittelbaren Nähe einer Fettgewebsnekrose liegen, werden bis zu einer Tiefe von zwei bis drei Azinusreihen ebenfalls zerstört. Diese Parenchymuntergänge unterscheiden sich deutlich von tryptischen Nekrosen durch ihre ausgeprägte Karyopyknose und die immense Granulozytäre Reaktion. Weniger stark geschädigte Zellen (oft mit nekrotischen Zellen in einem Azinus zusammen) zeigen einen Verlust der basalen Basophilie und der apikalen Granulation. Das Zytoplasma wird homogen eosinophil. Aus der Lage dieser Nekrosen wird deutlich, daß die Fettgewebsnekrosen zu einem Untergang der Drüsenzellen geführt haben und nicht umgekehrt (Abb. 25). Diese Art von Nekrosen finden sich bei allen Schädigungen der Bauchspeicheldrüse, sobald sie Pankreatitis Grad 1 oder mehr erreichen. Dabei ist unerheblich, durch welche Noxe sie ausgelöst werden. Nach der Instillation von Phospholipase A in den Ductus pancreaticus entsteht ein Großteil der Azinusnekrosen im Bereich von abgestorbenen Fettgewebe.

Toxische Stoffe, wahrscheinlich in erster Linie freie Fettsäuren aus den nekrotischen Fettzellen, führen hier zum Untergang von Pankreasepithelien. Ihre starke Zytotoxizität ist erwiesen (EHRICH, 1956; HIRSCH, 1958; PINKERTON, 1928). Die Azidität und die Seifenwirkung

und vielleicht auch die Präzipitation von Substanzen, die im Fett gelöst waren, führen zum Zelltod (WOLMAN, 1964). Wir beobachten bei diesen Nekrosen des Pankreas eine ausgeprägte granulozytäre Infiltration im Interstitium zwischen den nekrotischen Azini, wie sie auch sonst um Fettgewebnekrosen zu finden ist. Aus der Literatur ist bekannt, daß Fettsäuren, in die Wand von Arterien injiziert, zu einer starken Entzündung führen (CHRISTIANSEN). Zudem finden sich Resorptionsriesenzellen zwischen den Azini, ein Zeichen dafür, daß bis hierhin Fettsäuren diffundieren.

Tryptische Nekrosen zeichnen sich bei unserer Versuchsanordnung hingegen durch eine geringe leukozytäre Reaktion aus; Autolysat, tryptische oder peptische Verdauungsprodukte wirken nicht chemotaktisch auf Leukozyten (HARRIS, 1953). Die wenigen tryptischen Nekrosen nach der Instillation von Phospholipase A unterscheiden sich nicht prinzipiell von den Nekrosen, die durch eine Mischung von Phospholipase A und Natrium-Tauroglycocholat hervorgerufen werden, deshalb sei auf eine spätere Besprechung verwiesen.

Modifikation des Grundversuchs:

a) Injektion von Phospholipase A unter Druck.

Vorstellungen zur Pathogenese der Phospholipase-A-Pankreatitis

Die meisten Autoren beobachten nach der Instillation von Phospholipase A ohne weitere Zusätze keine nennenswerten Nekrosen. Nur die Arbeit von ANDERSON beschreibt eine schwerste, hämorrhagische Nekrose. Die Injektion von Phospholipase A unter 140 torr (1) in den kanülierten Ductus von Mongrels führte "zu einem sofortigen Ausgießen einer serosanguinösen interlobären Flüssigkeit". Von den zehn Versuchstieren überlebte keines (ANDERSON u. Mitarb., 1969).

Um diese Versuche nachzuvollziehen, injizierten wir bei einer Ratte 0,25 ml einer Phospholipase-A-Lösung unter mäßigem Druck in den Pankreasgang. Dabei zeigen unsere Schnitte wesentlich deutlichere und größere Parenchymnekrosen in perivasaler Lage als bei den Versuchen, die ohne Druck bei der Instillation durchgeführt wurden. Sie liegen in einem mächtigen eiweißreichen Ödem mit zahlreichen Granulozyten. Das Epithel des Wirsung'schen Ganges und seiner größeren Nebenäste zeigt keine Veränderungen, kleinere Gänge sind vereinzelt ruptu-

riert. Bei dem hohen Injektionsdruck von ANDERSON u. Mitarb. und sicher auch unserem Versuch tritt Phospholipase A durch Isthmusepithelien, das inaktive Gangsystem, zwischen den Azinuszellen vorbei und durch die Ruptur von kleinen Speichelgängen ins Interstitium aus (BECKER, 1954, 1976; DUPREZ u. Mitarb., 1963, 1964; EDLUND u. Mitarb., 1962; EGDAHL, 1958; PIROLA u. Mitarb., 1970). Es entsteht ein periazinär und interlobulär gelegenes "Speichelödem". Bevorzugt wird dabei beim Menschen wie beim Versuchstier der subkapsuläre Raum (BECKER u. Mitarb., 1957).

- Anmerkung: Der Begriff Speichelödem beschränkt sich auf den Austritt von Pankreasspeichel durch Isthmusepithelien, intaktes Gangsystem und zwischen Azinuszellen hindurch. Die Ruptur größerer und kleinerer Pankreasgänge gehört nicht mehr zu den Entstehungsmöglichkeiten des Speichelödems. Zerstörte Ductuli treten unter anderen Versuchsbedingungen erst als Folge der Pankreatitis auf (DUPREZ u. Mitarb., 1963). Wenn wir hier den Ausdruck "Speichelödem" verwenden, so geschieht dies, um den Begriff für die tatsächlichen Verhältnisse auf das Modell anzuwenden. In der Tat handelt es sich bei der Instillation von Phospholipase A oder Lysolecithin unter Druck in den Ductus pancreaticus weder in der Zusammensetzung noch in der Ätiologie um ein Speichelödem im strengen Sinne. Trotzdem ist es

gerechtfertigt, es als Modell der wirklichen Verhältnisse anzusehen, da unter diesen Bedingungen das pathogenetisch wesentliche des Speichelödems, nämlich das Vorhandensein eines aktiven Pankreasferments im Interstitium der Bauchspeicheldrüse, gegeben ist.

Zu diesem "Speichelödem", hier aus Phospholipase A bestehend, tritt als reaktive Exsudation noch Plasma, das sich rasch mit dem Speichelödem vermischt: Speichelödem als flüssiger Fremdkörper (BECKER, 1973, 1976). Wahrscheinlich bewirken geringe (aktive) Enzymmengen eine gesteigerte Kapillarpermeabilität (KNIGHT u. Mitarb., 1975). Diese reale seröse Entzündung bleibt virtuell, weil sich Speichelödem und vaskuläres Ödem nicht trennen lassen (BECKER, 1976): Speichelödem oder instillierte Phospholipase A führen zu einem vaskulären Ödem. Die Bedeutung des Extravasats für die Entstehung der akuten tryptischen Nekrose unterstreichen besonders LONGO u. Mitarb. (1951) und PIZZECCO (1960). Auch der umgekehrte Weg ist denkbar: Eine seröse Entzündung auf Grund eines unspezifischen Infektes führt zur Abklemmung eines kleineren Speichelganges. Der Bauchspeichel staut sich auf und tritt ins Interstitium über; dort verstärkt er die vaskuläre Reaktion. Die späteren Stadien sind als Speichelinfarkt bekannt. Normalerweise führt er zu einer Fibrosierung der Drüse oder des betreffenden

Drüsenteiles. Es wäre aber auch denkbar, daß sich durch dieses gegenseitige Aufschaukeln von duktilären und vaskulären Faktoren schlußendlich eine tryptische Nekrose entwickelt (DREILING u. Mitarb., 1964; HAYASAKA u. Mitarb., 1970; HEINKEL u. Mitarb., 1964).

Bei diesem Versuch mit der erhöhten Phospholipase-A-Menge und dem erhöhten Druck, der zu einer mechanischen Maltraitierung führt, kommt es zu einem verstärkten Durchtritt von Plasmasubstanzen, besonders auf der venösen Seite des Gefäßsystems. Die Porengröße eines Gefäßes bei einer Entzündung liegt zwischen 50 und 200 Å (EHRICH, 1956); sie lassen daher Partikel bis zu dieser Größe in ein entzündliches Ödem oder Exsudat austreten. 90% der überhaupt im Blut enthaltenen Phospholipide sind in Partikeln mit geringerem Durchmesser verteilt. Für den Menschen würde sich damit eine Phospholipidkonzentration im Extravasat von ca. 230 mg% ergeben (berechnet aus Werten von SCHLIERF u. Mitarb., 1973; und SEIDEL, 1971). In der gleichen Größenordnung liegen auch die Lecithinkonzentrationen, die in Transudaten gemessen wurden. Lymphe im Abdominalraum enthält ungefähr 100 mg% Phospholipide (COURTICE, 1959, 1960; - Werte für fettarm ernährte Kaninchen).

Damit findet die aus dem Gangsystem ausgetretene Phospholipase A ein entsprechendes Substrat, das sie in

das toxische Lysolecithin spaltet, welches gleichsam von hinten die Azinuszellen angreift. Hier sind die Pankreas-epithelien besonders empfindlich, da entscheidende Schutzmechanismen gegen toxische Stoffe umgangen werden. Der durch Alcian-Blau darstellbare Mucopolysaccharidschutz der Gangepithelien (BECKER, 1964, 1967, 1970) wird ebenso unwirksam wie der Spülstrom durch den Hydrochylus oder die Wirkung der Trypsininhibitoren (GÜRICH, 1973). Durch das periazinäre und perizelluläre Ödem wird zugleich der Diffusionsweg zwischen Blutkapillare und Pankreasepithelie vergrößert, womit auch der Parenchymschutzstoffwechsel gestört ist.

Der einzige Schutzmechanismus, den die Bauchspeicheldrüse bei diesem Versuch hat, ist der rasche Abtransport der Enzyme und des entstandenen Lysolecithins via Blutgefäße und vor allem über Lymphgefäße. Es handelt sich auch unter "normalen", d.h. nicht-pankreatitischen Verhältnissen, um einen ganz gewöhnlichen Vorgang, der auch bei physiologischen Bedingungen abläuft. HALLENBECK (1967) deutet den maximalen Sekretionsdruck des Pankreas sogar als Gleichgewicht zwischen Sekretionsdruck der Zelle und Sekretdurchlässigkeit des Gangsystems und der Interstitien (MORRIS, 1964).

Experimentell kann man die Bedeutung dieses Abflusses durch retrograde Tusche-Instillation in den Pankreas-

gang prüfen: die Tuschepartikel treten sehr rasch in den periazinären Raum und von hier in die Lymphgefäße über, und werden in den Ductus thoracicus, oder bei dessen Obstruktion über Lymphgefäße um die Vena lienalis in die Leber ausgeschwemmt (ANDERSON u. Mitarb., 1968). Ein ähnliches Ergebnis zeigen eigene Experimente, bei denen in vier Rattenpankreaten konzentrierte Giemsa'sche Lösung instilliert wurde. Nach zwei Stunden zeigte sich eine ausgeprägte Abnahme der Farbkonzentration, auch wenn es uns nicht möglich war, den Weg der Farbstoffausschwemmung zu verfolgen. Unterbindung des Lymphabflusses durch Tumormetastasen oder experimentell führt zu einem ausgeprägten Pankreasödem (BLALOCK u. Mitarb., 1937; WANKE u. Mitarb., 1969). Bei einem Verschluss des Ductus pancreaticus durch eine Ligatur steigt der Enzymgehalt im Ductus thoracicus an. Dies entspricht dem Aufsaugen des Speichelödems (DUMONT u. Mitarb., 1968).

Pankreatitis hingegen führt zu einem lokalen Lymphstau. Injizierte Tusche bleibt im periazinären Raum liegen, weil offensichtlich der Abfluß der Lymphe gestört ist, wahrscheinlich durch das Ödem, die Infiltrate und die Verengung der Lymphgefäße, vielleicht auch durch Erythrozyten, die in den periazinären Raum hineingeblutet sind. Bei Mäusen läßt sich der pankreatico-duodenale Lymph-

fluß während einer experimentellen Pankreatitis direkt messen. Versuche von PAPP et al. (1971 a) ergeben die starke Abnahme des Lymphflusses bei einer Ölpankreatitis von 1,35 ml/45 min auf 0,69 ml/45 min (= 59%). Bei der nicht autodigestiven Pankreatitis durch Taurocholat, die sich hauptsächlich periduktulär ausbreitet, findet sich ein wesentlich geringerer Abfall des Lymphflusses (auf ca. 80%). Eine Erklärung für diesen Unterschied gibt die Beobachtung von WANKE (1968 b), daß sich Leukozyten bei der Olivenölpankreatitis um infundathaltige Lymphgänge ansammeln und in sie eindringen. Der Lymphfluß wird dadurch und durch die direkte Nekrose von Lymphgefäßen zerstört.

Arteriell zeigt sich eine Minderperfusion in den pankreatischen Bereichen im Sinne einer Konstriktion von Arterien und Arteriolen. Die Venen sind weit, es findet sich eine Stase (ANDERSON u. Mitarb., 1968; PAPP u. Mitarb., 1969). Durch sie wird sowohl im venösen Schenkel als auch in der Lymphe die Invasionskonstante aus dem Organ verkleinert. Toxische Substanzen bleiben länger im interstitiellen Raum liegen und greifen die Zellen an. Hinzu kommt die Wirkung des Speichelödems, das die Diffusionsstrecke von der Kapillarwand bis zur Azinuszelle verlängert und zu einer relativen Hypoxie der Epithelzelle führt.

Daraus ergeben sich folgende Vorstellungen über die Pathogenese der durch Phospholipase A erzeugten Pankreatitis: Beim Speichelödem trifft Phospholipase A auf die Phospholipide des vaskulären Anteils des Ödems. Die Phospholipide sind an Lipoproteine gebunden und können deshalb leicht in Lysophosphatide gespalten werden. Gallensalze sind für diese Reaktion nicht nötig. Bei ausreichender Perfusion und einem entsprechenden Lymphabfluß wird das entstandene toxische Lysolecithin so rasch aus dem Parenchym ausgeschwemmt, daß es keine höhere Konzentration erreicht und seine zerstörende Wirkung auf die Pankreasepithelien nicht zum Tragen kommt.

In der ersten Stunde nach der Injektion toxischer Substanzen in den Pankreasgang werden die freigesetzten Enzyme vorwiegend durch die Blutgefäße absorbiert. Die Lipase und Amylase-Aktivität ist im venösen Pankreasblut höher als in der -lymphe. Danach steigt die Enzymaktivität in der Lymphe so sehr an, daß sie schließlich die des Blutes deutlich übertrifft (EGDAHL, 1958). Ähnliche Verhältnisse sind für die Ausschwemmung von Lysolecithin anzunehmen.

Bei unzureichender Perfusion, sei es durch eine arterielle Minderdurchblutung, eine venöse Stase (ANDERSON, 1963) oder einen ungenügenden Lymphabfluß, erhöht sich die Konzentration des Lysolecithins.

Ein Circulus vitiosus beginnt: Lysolecithin führt zur Nekrose von bislang intakten Zellen. Ihre Zymogengranula werden frei und die Enzyme daraus durch die Phospholipase A freigesetzt. Die Phospholipide der toten Zellen stehen für die Hydrolyse zur Verfügung, der Lysolecithinspiegel steigt weiter. Unklar bleibt, wie die Prophospholipase A, die aus den Zymogengranula freigesetzt wird, aktiviert wird, da ja offensichtlich in einer Pankreasnekrose kein aktives Trypsin zur Verfügung steht (ARAI, 1965; BECK u. Mitarb., 1964; BLEYL u. Mitarb., 1967; Mc CUTCHEON u. Mitarb., 1963; NAGEL u. Mitarb., 1964; SCHÖN u. Mitarb., 1963). Vielleicht genügen bereits Spuren von Trypsin zur Aktivierung der Phospholipase A, die sich mit den bisherigen morphologisch-biochemischen Methoden nicht nachweisen lassen (SCHMIDT, 1970). Bei Pankreatitiskranken mit Fistel gelang es, aktives Trypsin und Chymotrypsin nachzuweisen (GEOKAS u. Mitarb., 1968 b, 1969 b). Beim "Absterben" eines Pankreashomogenats beschreiben SCHÖN u. Mitarb. (1963 c) eine Aktivierung der Proteasen.

Über die Wirkung der proteolytischen Restaktivität auf die Prophospholipase A bestehen noch keine Klarheiten. Offensichtlich aber ist es keineswegs schwierig, daß Prophospholipase A in Phospholipase A verwandelt wird, denn sonst wäre jene nicht unter normalen Bedingungen

im Pankreas zu finden - wenn auch nur in geringer Aktivität - (ALTMANN, 1974; vgl. dagegen DEMLING, 1973; BELLEVILLE u. Mitarb., 1968 b; BELLEVILLE u. Mitarb., 1969; de HAAS u. Mitarb., 1968).

Für diese vermehrte Phospholipase-A-Aktivität steht eine große Menge Substrat zur Verfügung. Zu einem sind dies die Phospholipide der nekrotischen Pankreas-epithelien und des Bindegewebes. Sie können von Phospholipase A hydrolysiert werden, während die Phospholipide aus Membranen lebender Zellen nicht angreifbar sind (SCHMIDT u. Mitarb., 1967). Beim Rattenpankreas sind ca. 2% des Naßgewichts Phospholipide. Nach Reizung durch Pankreozymin oder Acetylcholin steigt der Phospholipidgehalt sogar noch weiter an (HOKIN, 1967). Zum andern sind es die Phospholipide aus dem Serum; Lysolecithin führt bei subkutaner Injektion binnen 10 Minuten zu einem "monströsen Ödem" mit Fettgewebsnekrose (PHILLIPS u. Mitarb., 1965). Diapedeseblutungen aus Kapillaren treten bei der Applikation von Lysolecithin in verschiedenste Organe auf und führen zu einem Einstrom von Phospholipiden in die Nekrose (GUERRINI, 1925; BELFANTI, 1925).

SCHMIDT u. Mitarb. (1967) konnten bereits in ihrer ersten Veröffentlichung zeigen, daß der Lysolecithingehalt bei Phospholipase-A-Pankreatitis stark erhöht ist.

Bei der menschlichen Pankreatitis wiesen sie eine Erhöhung der Lysolecithinkonzentration im pankreatitischen Teil der Drüse, verglichen mit dem nicht-pankreatitischen Teil, nach. Dies gelang bei zehn Patienten mit akuter Pankreatitis (CREUTZFELDT u. Mitarb., 1970). Untersuchungen, die nur den Lysolecithingehalt in autoptischen Nekrosematerial messen und mit dem Lysolecithingehalt frischer Präparate vergleichen, sind wertlos, da postmortal die Lysolecithinkonzentration im Pankreas auch beim Fehlen einer Pankreatitis stark ansteigt (LINDLAR, 1962; MASSHOFF u. Mitarb., 1964). Nicht nur bei experimentellen Pankreatitiden, die durch Phospholipase A hervorgerufen werden, sondern auch bei ^{der} experimentellen Pankreatitis durch Taurocholat und Trypsin an Hunden steigt die Phospholipase-A-Aktivität im Exsudat der Drüse an, wie GJONE u. Mitarb. (1967) berichten. Ähnliche Ergebnisse auch bei HATAO (1969).

Eine reine Taurocholatpankreatitis führt nicht zu einer Erhöhung der Lysolecithinkonzentration im Pankreas oder in der abführenden Lymphe (PAPP u. Mitarb., 1973). Offensichtlich wird die Phospholipase durch die wohlbekannte Koagulationsnekrose, die auch von den Verfassern beobachtet wurde, so rasch inaktiviert und denaturiert, daß es zu keiner wesentlichen Lysolecithinbildung kommt.

Elektrotenmikroskopische Befunde zeigen, daß Gallensalze die Pankreasepithelien zerstören, ohne die Lymphengranula zu beteiligen (AFF u. Mitarb., 1971 b). Die Trypsinpankreatitis hingegen funktionierte auch bei diesen Verfassern schon nach 9 Minuten zu einer deutlichen Erhöhung des Lysolecithin-ecithin-Quotienten, auch wenn - bedingt durch den massiven Flüssigkeitseinstrom in die irritierte Drüse - die Konzentration des Lysolecithins nicht anstieg.

Modifikation des Grundversuchs:

- b) Injektion von Phospholipase A in den Rattenbauch.
Verminderte Ausschwellung; Erhöhung der Aktivität der Phospholipase A durch Gallensalze.

Um die Wirkung der Phospholipase A auf ein Ristion (LEFFNER, 1959) festzustellen, injizierten wir eine Phospholipaselösung mit ca. 25 U in die Baue von Ratten. Wie unter "Pharmakodynamik" gezeigt, bietet sich dieses Organ an, weil seine Invasionskonstante ins Blut gering ist. Damit bleibt über längere Zeit ein Phospholipase-A-Spiegel erhalten, und auch die Lysolecithinkonzentration nimmt nicht so rasch ab wie in besser durchbluteten Geweben.

Im Gegensatz zu den Versuchen an gewaschenen, extravitalen Abschnitten verschiedener Organe wie Leber, Milz, Muskulatur (Mc ARDLE u. Mitarb., 1960; LEAHILL u. Mitarb., 1964), die auf Phospholipase-A-Aktivität keine wesentlichen Reaktionen zeigen, können wir bei unseren in vivo-Versuchen am Rattenknoten deutliche Reaktionen erkennen.

Nach drei Stunden findet sich eine entzündliche Reaktion: zahlreiche Granulozyten sind im plasmatischen Randstrom; sie wandern durch die Wände der Venolen. Dadurch werden sie aufgelockert, ihre Media enthält Vakuolen und ein Exsudat liegt im Interstitium, gekennzeichnet durch feine eosinophile faserige Netze aus Fibrin. Bereits ausgetretene Granulozyten liegen perivassal (Abb. 3).

Am Tubulusepithel und den Zellen des Interstitiums sind keine wesentlichen Schäden zu erkennen (Abb. 4). Eine chemotaktische Wirkung auf Granulozyten durch geschädigtes Gewebe scheidet deshalb wahrscheinlich aus (Mc CUTCHEON, 1942; EHRICH, 1956). Zudem ergeben Untersuchungen von HARRIS (1953), daß weder Arteriolekt noch tryptische oder peptische Verdauungsprodukte von Geweben chemotaktische Eigenschaften besitzen.

Kontrollversuche mit gleicher Lösung, aber eines nicht enzymatisch aktiven Protein (humanes Albumin), zeigten keine

irkung auf den Hoden: die entzündliche Reaktion ist
desgleichen auf die Wirkung von entstandenem Lysolecithin
zurückzuführen. Ähnliche Beobachtungen wurden an der
Blase eines Kaninchens gemacht. Auch hier führt die
Injektion von Lysolecithin zu einer granulozytären Ent-
zündung, ebenso wie bei subkutaner Injektion (BELFANTI,
1968; GOTTFRIED, 1969; STERRINI, 1969; WEIDENHISER u.
Mitarb., 1973; PHILLIPS u. Mitarb., 1969). Die Entzündung
kann durch eine Lysolecithinspaltende Phospholipase
B gehemmt werden (MODOLELL, 1972).

In dieser frühen Phase steht die inflammatorische Wir-
kung des Lysolecithins ganz im Vordergrund der Reaktion
des Hodens. Die schädigend-nekrotisierende Wirkung
auf die Zellen ist in diesem Zeitpunkt erst ganz schwach
zu erkennen: manche glatte Muskelzellen der Media von
Gefäßen haben Vakuolen, vereinzelt finden sich degenerie-
rende Leydig'sche Zwischenzellen mit Vakuolen im Zyto-
plasma.

Unsere lichtmikroskopische Beobachtung am Hattenhoden
wird durch elektronenmikroskopische Untersuchung an
anderen Zellen bestätigt. Nach Einwirkung einer 0,4%-
igen Lysolecithinlösung auf isolierte Makrophagen kommt
es sowohl zu einer Schwellung der Mitochondrien mit
einer Dilatation der Cristae mitochondriales, als auch

zu einer Vergrößerung und Ausweitung der Lysterneen des endoplasmatischen Retikulums. Ähnliche Befunde ergeben sich an BP 8-Tumorzellen (WILKINSON u. Mitarb., 1969).

Diese Schwellung ist Zeichen einer Entkopplung der oxydativen Phosphorylierung, wie das auch von Phospholipase-A-behandelten Mitochondrienpräparationen bekannt ist (AUGUSTYN, 1970; AWASHI u. Mitarb., 1969; BURSTEIN u. Mitarb., 1971; DOBIASOVA u. Mitarb., 1971; WILKINSON u. Mitarb., 1969). Nekrosen sind drei Stunden nach der Injektion von Phospholipase A in den Rattenhoden nicht zu erkennen. Offensichtlich ist dafür die Lysolecithinkonzentration noch zu gering. Zudem ist wahrscheinlich die Nekrophanerose noch nicht eingetreten: dann wären Zellen nekrotisch, ohne daß wir dies erkennen. MÜLLER (1955) gibt für die Zeit vom Beginn der Schädigung bis zur Nekrophanerose bei Zellaufschwemmungen eine Dauer von acht Stunden an. Wenn sich folglich drei Stunden nach der Injektion von Phospholipase A oder Lysolecithin noch keine eindeutigen Zeichen des Zelltodes zeigen, so besagt dies keinesfalls, daß die Zellen noch leben oder nicht geschädigt werden.

Vereinzelte treten schon drei Stunden nach der Injektion von Phospholipase A oder Lysolecithin Hodenriesenzellen

auf. Sie bestehen vorwiegend aus Plasmodien vom Spermantidentyp (also ausgehend von Zellen, die besonders empfindlich gegen Lysophosphatide sind), sie sind durch ein ziemlich homogenes Zytoplasma und bläschenförmige Kerne gekennzeichnet. Meist liegen sie zu mehreren in einem Tubulus (Abb. 11). Seltener finden sich auch Plasmodien aus Spermatozyten mit feingranulärem Zytoplasma und Kernen mit ausgeprägten Nucleolen und Chromatinstrukturen (Abb. 12) und Riesenzellen aus Spermato gonien mit dunklen Kernen (Abb. 6). Ihr Auftreten ist zwar keineswegs spezifisch für diese Nekrose, denn Hodenzellen neigen zur Plasmodienbildung (DOERR, 1973; de GAETANI, 1932; KANWAR, 1971; POSINOVEC, 1973; RIVENZON u. Mitarb., 1966). In dieser großen Zahl aber spricht das ebenfalls für eine Membranstörung, hervorgerufen durch das einwirkende Lysolecithin.

So induziert Lysolecithin bereits nach 30 Sekunden Einwirkung die Riesenzellbildung aus Hühnererythrozyten, oder eine Verschmelzung von Mäusefibroblasten mit Hühnererythrozyten oder von Mäusefibroblasten mit Hamsterfibroblasten (CRAMP u. Mitarb., 1972; KEAY u. Mitarb., 1972). Auch eine Verschmelzung von Rattenspermien mit Hamsterzellen kann durch Lysolecithin ausgelöst werden. Dabei ändern die Kerne ihre Gestalt (CROCE u. Mitarb., 1971). Trotz ihrer (rassen-) verschiedenen Kerne sind diese Plasmodien relativ stabil.

Die Reaktion des Hodens auf eine Phospholipase-A-Injektion ist nach 24 Stunden durch eine Nekrose gekennzeichnet. Die Entzündung findet sich jetzt um die Nekrose herum als Demarkation. Im Zentrum ist sowohl das Keimepithel als auch das interstitielle Gewebe völlig nekrotisch und nur unklar als Detritus zu erkennen. Phospholipase A ist also definitiv bei entsprechend langer Einwirkungszeit in der Lage, Nekrosen zu erzeugen. Morphologisch unterscheiden sich diese qualitativ nicht von Nekrosen, die durch eine Mischung von Phospholipase A und Natrium-Tauroglycocholat hervorgerufen werden. Quantitativ ist sie weniger ausgeprägt; ihr Durchmesser ist kleiner, weniger Tubuli sind nekrotisch geworden. Die schon sehr früh beobachtete unterschiedliche Empfindlichkeit der verschiedenen Zellgenerationen, die im Tubuluslumen beisammen liegen, zeigt sich auch bei unseren Versuchen (Beschreibung der unterschiedlichen Empfindlichkeit der Zellen: MAXIMOW, 1899; SCHINZ u. Mitarb., 1924 a, b). Im Gegensatz zu Versuchen mit anderen Noxen, wie Hitze, ionisierender Strahlung und verschiedenen toxischen Agentien, bei denen sich Sertoli-Stützzellen als sehr widerstandsfähig erweisen, werden gerade sie durch Lysolecithin frühzeitig zerstört. Auch Präspmatiden und Spermatiden sind besonders empfindlich gegen die Wirkung von Phospholipase A und Lysolecithin. Im Zentrum der Nekrose sind sie fast

vollständig verschwunden, weiter in der Peripherie sind sie aufgetrieben als Folge eines gestörten Energiestoffwechsels und/oder einer gestörten Zellmembranfunktion.

Durch die Wirkung von Phospholipase A und Lysolecithin wird der Zusammenhalt der Zellen untereinander zerstört. Sie "fallen" ins Tubuluslumen, die Kanälchen haben dadurch ihr Lumen verloren. Ähnliche Störungen der Oberflächenfunktion beobachten WILKINSON und CATER in vitro an Makrophagen, die einer 0,2%igen Lysolecithinlösung ausgesetzt sind: ihre Mikrovilli werden lang und schließlich lösen sie sich von der Membran und zerbrechen. Dieser Effekt tritt bei geringerer Lysolecithinkonzentration auf als die Mitochondrienschwellung. Es ist daher denkbar, daß die interzellulären Kontakte des Samenepithels (NICANDER, 1967) bei einer geringen Lysolecithinkonzentration ebenfalls geschädigt werden, so daß die Zellen ins Tubuluslumen abschwimmen. Bei unseren Versuchen zeigt sich die Auffüllung des Kanälchens als erster Ausdruck einer Schädigung. Dies ist bereits drei Stunden nach Injektion der Phospholipase-A-Lösung sichtbar; die Oberflächenveränderungen an den Makrophagen treten fünf Minuten nach Einwirkung von Lysolecithin deutlich in Erscheinung.

Die Lamina propria der Tubuli ist in etliche Lagen aufgesplittert. Zwischen ihnen finden sich Zisternen, die mit einer etwas Protein enthaltenden Lösung aufgefüllt sind. Die Aufspaltung der Eigenhaut führt zu einer Instabilität ihrer einzelnen Schichten; besonders die innere (oder inneren) Lagen sind im mikroskopischen Schnitt sehr wellig und um sich selbst torquiert (Abb. 24). Auch diese Effekte sind nicht spezifisch für Lysolecithin oder Phosphalipase A, denn verschiedene Noxen (Hypophysektomie, Hitze, "pathological aggression") führen zur Aufspaltung der Lamina propria des Kanälchens in viele Schichten und zur Drehung um sich selbst (COUROT u. Mitarb., 1970; IDÄÄNPÄÄN-HEIKKILÄ, 1966). Unsere Versuche, bei denen wir 2%-iges Natrium-Tauroglycocholat in den Hoden injizierten, und die zu ausgedehnten Nekrosen der Tubuli und des Interstitiums führten, zeigen hingegen keinerlei Aufspaltung der Lamina propria. Offensichtlich erfordert die Aufsplitterung der Eigenhaut mehr als nur eine Detergenswirkung oder das Entstehen einer Nekrose, da diese auch durch die Gallensalze gegeben ist.

Trotz dieser schweren Zerstörung bietet die Basalmembran für die Granulozyten ein unüberwindliches Hindernis. Die können das völlig nekrotische Material im Tubuluslumen nicht angreifen. Nicht nur nach Lysolecithin, sondern auch bei den Nekrosen nach 2%iger

Tauroglycocholatlösung, findet sich nach 24 Stunden ein granulozytenvolles Interstitium, ohne daß eine Invasion in die toten Tubuli erfolgt. Die menschliche Pathologie lehrt, daß dies keineswegs so sein muß. Bei Mumpsorchitis treten die Granulozyten in die Tubuli ein. Das samenbildende Epithel zerfällt daraufhin nekrotisch (DHOM u. Mitarb., 1975). Dagegen läuft bei einer bakteriellen Orchitis die Spermiogenese lange Zeit unangefochten ab (DOERR u. Mitarb., 1970). Sogar eine vorzeitige Spermatogenese bei dicht leukozytär infiltriertem Interstitium wurde beobachtet (KUNTZEN, 1925). Nach OBERNDORFER (1931) kommt es bei Infektionskrankheiten frühzeitig zu einem Einbruch von Granulozyten in das Tubuluslumen, dabei sei gelegentlich die eine Wand eingeschmolzen, die Lichtung des Kanälchens mit Leukozyten und Bakterien erfüllt, daneben aber die Samenbildung an der anderen Wand aber wenig gestört.

Die Blutgefäße im Interstitium zeigen nach der Einwirkung von Lysolecithin oder Phospholipase A nach drei Stunden Vakuolen in der Media, nach 24 Stunden sind sie verödet, die Erythrozyten in ihrem Lumen aufgelöst, ihre Wände völlig nekrotisch und insgesamt sind sie nur noch als Schatten zu erkennen. Bei einigen Gefäßen spannen sich Fibrinnetze im Gefäßlumen aus.

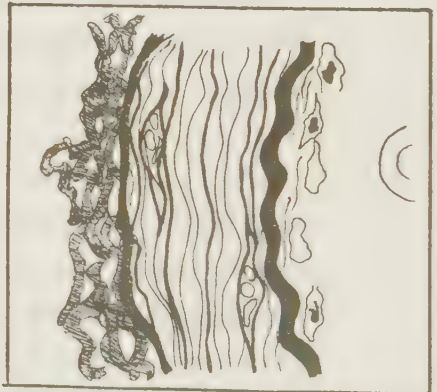
Phospholipase A und Lysolecithin sind also definitiv in der Lage, eine Nekrose der gefäßbildenden Zellen hervorzurufen. Zerstört werden die Zellen von Endothel, Media und Adventitia. Im Gegensatz zu den Beobachtungen von PHILLIPS u. Mitarb. (1965), die bei subkutaner Injektion von Lysolecithin keine Gefäßzerstörungen feststellen konnten, stehen unsere Beobachtung und auch die Beobachtungen von BELFANTI (1925) und GUERRINI (1925). Diese von uns beobachtete Art der Gefäßzerstörung nach Phospholipase A oder Lysolecithin ist von der Nekrose, die durch Elastase hervorgerufen wird, klar zu unterscheiden: Phospholipase A und Lysolecithin zerstören die zellulären Bestandteile des Gefäßes. Schon die kurzzeitige Einwirkung von Lysolecithin soll zu Endothelnekrosen führen (WANKE u. Mitarb., 1968). Elastase hingegen greift fast ausschließlich die elastischen Membranen der Gefäße an und erst in späteren Phasen kommt es zu einem Untergang der glatten Muskelfasern und des Endothels (Literatur über die Elastasewirkung bei: DOERR u. Mitarb., 1968; GEOKAS u. Mitarb., 1968 a, b, c; MOLNAR u. Mitarb., 1968). Die Hämorrhagie bei den Versuchen mit Elastase tritt durch die Auflösung der azellulären Bestandteile der Gefäßwand ein, während bei den Versuchen mit Phospholipase A und Lysolecithin die zellulären Bestandteile zerstört werden. Die kollagenen und elastischen Bestand-



Vergleich der Wirkung von Phospholipase A/Lysolecithin und
Elastase auf eine Arteriole. Oben: vor Einwirkung eines Enzyms



Arteriole nach der Einwirkung von
Elastase. Die elastischen Membranen
werden zerstört, die glatten Muskel-
zellen bleiben erhalten.



Arteriole nach der Einwirkung einer
Phospholipase A/Lysolecithinlösung.
Nekrose der Zellen, erhaltene elasti-
sche Membranen.



BLUTUNG

teile des Gefäßes bleiben erhalten, was zugleich ein Zeichen für die Reinheit des verwendeten Phospholipase-A-Präparates ist. Bei unseren Versuchen zeigt sich, daß einzelne völlig nekrotische Gefäße perfundiert werden. Wohlerhaltene Erythrozyten und Granulozyten finden sich in ihrem Lumen. Offensichtlich verhindert der Blutstrom, daß im Gefäß die Lysophosphatid-Konzentration auf hämolytische Werte ansteigt. Die Gefäßwand hingegen ist einer kaum verminderten Konzentration der toxischen Reaktionsprodukte ausgesetzt. Ihre Zellen sterben ab.

Nach 24 Stunden können wir noch keine Hämorrhagie erkennen; sicherlich wäre es aber bei längerer Versuchsdauer oder anderen ungünstigen Bedingungen zu einer Ruptur der Gefäßwand und einer Einblutung in die Nekrose gekommen.

Bei Injektion einer Mischung aus Phospholipase A und einer für sich allein genommen nicht toxischen Natrium-Tauroglycocholatlösung in den Rattenhoden zeigen sich ausgedehntere Nekrosen als durch Phospholipase A allein. Eine tryptische Pankreatitis läßt sich erst durch diese Mischung auslösen, es sei denn, die Phospholipase-A-Instillation erfolgt mit entsprechend hohem Druck. Fünf Erklärungen, die jeweils einen Teilaspekt umfassen, bieten sich hierfür an:

- 1.) Nicht wasserlösliche Phospholipide werden in Gegenwart von detergentienartig wirkenden Gallensalzen rascher gespalten. Bei gleicher Abflußrate entsteht damit eine höhere Lysolecithinkonzentration im gleichen Raum oder die gleiche Lysolecithinkonzentration in einem größeren Raum. Ohne Gallensalze ist die Phospholipase A aus Rattenpankreas gegenüber micellar gelöstem Lecithin praktisch nicht aktiv (BONSEN u. Mitarb., 1972).
- 2.) 0,75%iges Natrium-Tauroglycocholol bewirkt, wie sich aus unseren Versuchen am Hoden ergibt, eine serofibrinöse Entzündung. Weitere Phospholipide strömen in das ohnehin flüssigkeitsreiche Interstitium und damit stehen mehr primär spaltbare Phospholipide zur Verfügung. Die injizierte Phospholipase A findet genügend Substrat. Die Lysolecithinkonzentration steigt an.
- 3.) Der Abfluß toxischer Substanzen aus dem Interstitium wird durch Natrium-Tauroglycocholol entscheidend vermindert: die Gefäße zeigen eine Stase. Die Arterien und Arteriolen sind enggestellt, der venöse Schenkel ist weit. Dieses am Hoden beobachtete Phänomen ist vom Pankreas bei der Taurocholol-Pankreatitis geläufig.

Die entstehenden Thromben sind die Folge, nicht die Ursache der Pankreatitis (BECKER, 1976). Die zu Beginn einer experimentellen Pankreatitis stark erweiterten Lymphbahnen können nach Obstruktion mit Erythrozyten und Zelldetritus (z.B. durch die Wirkung von Phospholipase A/Lysolecithin) toxische Stoffe nicht mehr eliminieren (PAPP u. Mitarb., 1969; SCHÖNBACH u. Mitarb., 1967). Der anfangs stark erhöhte Lymphfluß sistiert (WANKE u. Mitarb., 1976).

- 4.) Die arterielle Versorgung wird durch die Konstriktion der Arteriolen und die Eröffnung arteriovenöser Anastomosen vermindert bei gleichzeitiger Vergrößerung des Diffusionsweges von der Kapillare zur Zelle (durch das Exsudat). Dadurch geraten die Zellen in eine relative Anoxie, die sie ohne die zusätzliche Noxe einer Phospholipase-A- oder Lysolecithin-Injektion tolerieren; mit ihr dagegen kommt es zur Ausbildung von Nekrosen. Das gleiche Phänomen ist vom Pankreas bekannt: die Verdaubarkeit der Bauchspeicheldrüse wird durch Zirkulationsstörung und Hemmung der Zellatmung ausgelöst (BECKER, 1963).
- 5.) Phospholipase A kann in Gegenwart von Gallensalzen direkt die Membranen lebender Zellen angreifen. Freiwerdende Lysophosphatide verstärken diesen Effekt.

Bei Injektion einer 0,75%igen Natrium-Tauroglycocholatlösung allein ist nach 24 Stunden das Exsudat in den Interstitien eher geringer als mehr geworden. Die Zahl der Granulozyten im Bindegewebe und den Gefäßen ist verringert gegenüber dem Effekt nach drei Stunden. Es finden sich weder bei den interstitiellen Zellen noch am Keimepithel Nekrosen. Auch das Pankreasepithel zeigt bei dieser geringen Konzentration nur unbedeutende Gewebsuntergänge.

Da wiederholt die toxische Wirkung von Taurocholat herausgestellt wurde (HANSSON, 1967; HANSSON u. Mitarb., 1962; SUM u. Mitarb., 1970), und andererseits die toxische Wirkung von Galle in Frage gestellt wird (RICHTERICH, 1958), erhöhten wir die Konzentration unserer aus gesättigten Gallensalzen bestehenden Lösung auf 2%. Dabei kommt es eindeutig zur Ausbildung von schweren Nekrosen im Hoden oder Pankreas. Testes, die nach drei Stunden entnommen werden, zeigen keine Nekrosen. Dies steht in deutlichem Gegensatz zu den Beobachtungen am Pankreas, bei denen z.T. in Minutenschnelle subtotale Parenchymnekrosen entstehen (WANKE, 1963; WANKE u. Mitarb., 1968).

Dieser Effekt ist nicht einfach zu erklären, da durch die Wirkung von Taurocholat die Azinuszellen zerstört werden und sich nicht selbst zerstören. Der Enzymbestand

ist deshalb für das Eintreten der Nekrose unerheblich. Dagegen ist die frühe Nekrophanerose am Pankreas offensichtlich eine Leistung der Enzyme des Organs (Proteinfällung durch Eigenfermente). wir schließen daraus, daß Taurocholat auch in höheren (2%) Konzentrationen nicht die Fähigkeit der "nekrotisierenden Koagulation" (MÜLLER, 1955) besitzt, da die Zellen des Hodens wesentlich längere Zeit benötigen, bis ihr Tod durch morphologische Methoden nachweisbar ist.

Die Bedeutung der Phospholipase A für die Entstehung einer tryptischen Pankreatitis

Die Taurochol ATPankreatitis als Modell der tryptischen Pankreatitis ist abzulehnen (BECKER, 1973; WANKE u. Mitarb., 1966, 1976). Morphologisch ist sie von der autodigestiven Pankreatitis durch die Lage der Nekrose zu unterscheiden. Diese liegt bei der Taurochol ATPankreatitis vorwiegend periduktulär um die Pankreasgänge herum, während gerade bei der menschlichen tryptischen Pankreatitis die Nekrosen in der Peripherie der Drüse zu finden sind. Zudem kommt es selten zu einem Influx größerer Gallenmengen in den Ductus pancreaticus, da die OPIE-HALSTED'-Regel nur schwer zu erfüllen ist. SCHMIEDEN u.d. SEBENING (1927) haben bei akuter hämorrhagischer Pankreatitis eine Refluxmöglichkeit von ca. 20% errechnet. Nach DOERR (1970) sind nur in 5% aller tödlich ausgegangenen Pankreatitiden Papillensteine (wahrscheinlich) wichtig gewesen. Die Pankreata älterer Menschen zeigen dagegen wesentlich häufiger Zeichen abgelaufener (kleinerer) pankreatitischer Schübe (DOERR, 1959). Nur 10% der Bauchspeicheldrüsen Erwachsener sind intakt (BECKER, 1971). Die Gallerefluxpankreatitis (besser: Galleinfluxpankreatitis)

ist deshalb zwar im Einzelfall nicht abzulehnen, des Rätsels prinzipielle Lösung stellt sie hingegen nicht dar (BECKER, 1970 a).

So können z.B. Schweine eine akute tryptische Pankreatitis erleiden, auch wenn der Abstand zwischen der Mündung des Ductus pancreaticus und des Ductus choledochus etwa zwölf bis zwanzig Zentimeter beträgt (BOS, 1954; KAST, 1967; NICKEL u. Mitarb., 1960). Umgekehrt kommt bei Ratten eine spontane, tryptisch-hämorrhagische Pankreatitis nicht vor, auch wenn Gallengang und Pankreasgänge zusammenfließen (DOERR u. Mitarb., 1958). Nach STRACK u. Mitarb. (1967) stellt der Reflux offenbar erst eine Folge der eingetretenen Pankreatitis dar, nicht aber deren Ursache. Insgesamt gesehen, steht die Gallereflux-Theorie der tryptischen Pankreatitis "nicht auf festen anatomischen und physiologischen Füßen" (BECKER, 1973).

Selbst die Umfunktionierung der Galle = Taurocholatan-
pankreatitis in eine Galle = Lysolecithinpankreatitis,
wie dies bereits SCHMIDT u. Mitarb. (1966) tun, ist
trotz des hohen Phospholipidgehalts der Galle - beim
Menschen bis 800 mg% ! - abzulehnen (BORGSTRÖM, 1957;
COLEMAN u. Mitarb., 1964; PHILLIPS u. Mitarb., 1960).

Eine Pankreatitis, die durch Lysolecithin im Wirsung'schen Gang ausgelöst wird, zeichnet sich, wie unsere Versuche eindeutig zeigen, durch eine periductuläre Lage der Nekrosen aus. Die menschliche Pankreatitis hingegen ist geradezu gekennzeichnet durch die Trypsis in der Peripherie der Drüse bei besser erhaltenem Gewebe um den Ductus wirsungianus (BECKER, 1973 b). Sowohl die durch retrograde Injektion erzeugte Lysolecithinpankreatitis als auch die Taurocholatspankreatitis zeichnen sich durch Zerstörung des Epithels von Ductus pancreaticus und seiner Nebenäste aus, wie unsere Versuche am Rattenpankreas eindeutig zeigen.

Die Wirkung des Lysolecithins, das durch Phospholipase A entsteht, muß bei der menschlichen Pankreatitis also in der Peripherie und von der Peripherie her vom Interstitium ausgehend auf die Drüse wirken. Daraus ergibt sich folgender Mechanismus der menschlichen Pankreatitis:

Auf verschiedenen Wegen (Isthmen, durch Azinusepithelien und zwischen Azinusepithelien hindurch) erreicht das Speichelödem, bzw. im Versuch die instillierte Phospholipase-A-Lösung, das Interstitium, und wirkt auf die extrazellulären Phospholipide des Plasmas und der Lymphe. Da der Phospholipidgehalt im Ductus thoracicus bis 200 mg% beträgt (COURTICE, 1959, 1960),

steht damit eine ausreichende Menge Substrat zur Verfügung. Diese lipoproteingebundenen Phospholipide können auch ohne Taurocholat oder ein anderes Detergens durch Phospholipase A zu lyso-Phospholipiden gespalten werden. Besonders die Phospholipase A aus menschlichem Pankreas zeigt eine hohe Affinität zu diesen makromolekular gebundenen Lecithinen (CONDREA u. Mitarb., 1969; KLIBANSKY u. Mitarb., 1963; MARINETTI, 1961, 1965), wie in vitro als auch in vivo gezeigt wurde. So ergaben Untersuchungen von CONDREA u. Mitarb. (1963), daß bei Injektion von Phospholipase A in die Ohrvene von Kaninchen innerhalb einer Stunde der Lecithingehalt des Plasmas auf null abnimmt, während die Konzentration von Lysolecithin zunächst ansteigt, dann aber wieder absinkt, wobei die Erythrozyten kugelförmig umgewandelt werden oder sich auflösen. Der für alle bislang aufgestellten Modelle der menschlichen Pankreatitis geforderte Influx von Galle in den Ductus pancreaticus, verbunden mit einem Reflux von Pankreasspeichel, ist nach unseren Vorstellungen nicht notwendig. Der Rückstau von Pankreassaft mit aktivierter Phospholipase A und ein durch irgendeinen Mechanismus verminderter Austausch der interstitiellen Flüssigkeit oder eine zu hohe Enzymkonzentration genügen, um den Circulus vitiosus der akuten tryptischen Nekrose in Gang zu setzen. Galleinflux kann bei bestehendem Speichelödem mit aktiver Phospho-

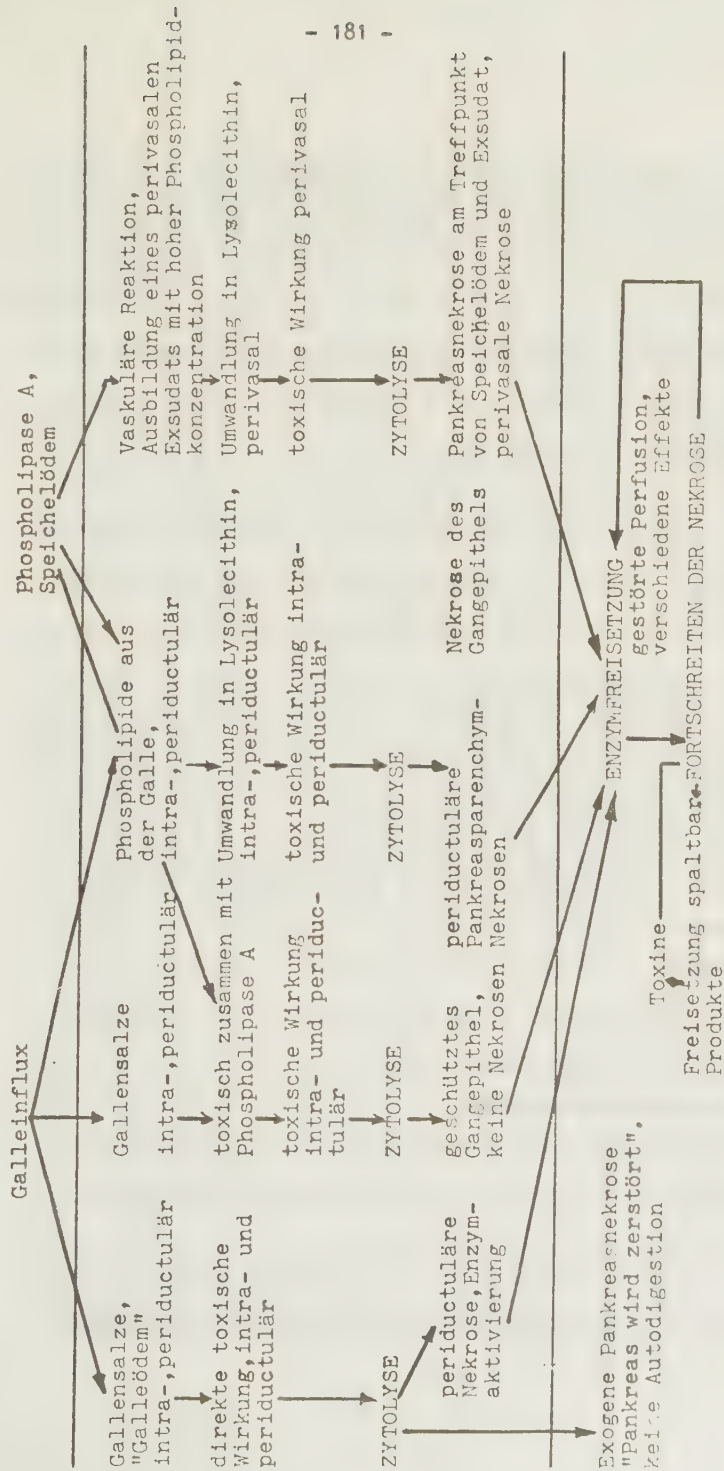
lipase A die akute Trypsis der Bauchspeicheldrüse auflösen, aber er stellt keine *conditio sine qua non* dar. Galleinflux ist nur eine Möglichkeit der Pankreatitisentstehung.

Nachfolgendes Schema vergleicht unsere Theorie der menschlichen Pankreatitis mit den Galleinfluxtheorien.

GALLETHEORIEN

Callinflux in den Ductus pancreaticus erforderlich

UNSER MODELL
kein Gallenflux erforderlich



periductulär = um die kleinen Pankreas-ausführungsgänge gelegen.

Eine Mischung aus aktivem Pankreassaft und Blut wirkt hochtoxisch (ANDERSON, 1965; HOFERICHTER, 1968; KESTNER, 1923). Die anfangs dafür angeschuldigten Verdauungsprodukte des Hämoglobins durch Pankreassaft (HOFERICHTER, 1968; NEMIR, 1966; NEMIR u. Mitarb., 1964) entstehen bei keimfreier Inkubation von Blut mit Trypsin nicht (GREUTZFELDT u. Mitarb., 1966). Wirkt hingegen Phospholipase A auf Vollblut ein, so treten toxische Stoffe auf, die zu einer Hämolyse führen (ROTHSCHILD, 1965). Es liegt nahe, die Lyse der Erythro- und Leukozyten auf entstandenes Lysolecithin zurückzuführen.

Bei geringer Phospholipase-A-Konzentration und genügendem Spülstrom der Lymphe bleibt die Lysolecithinkonzentration so gering, daß keine Schäden an der Pankreaszelle entstehen; die zahlreichen Blut- und Lymphkapillaren der interazinären und interlobulären Spalträume führen zur raschen Ausschwemmung toxischer Substanzen (ZELANDER u. Mitarb., 1962). Tritt eine Verminderung des Lymphabflusses oder eine Stase in der Blutversorgung ein und damit ein verminderter Austausch der interstitiellen Flüssigkeit, so steigt die Lysophosphatidkonzentration. Die ohnehin durch die Hypoxie vorgeschädigten Zellen werden durch Lysolecithin zerstört.

Die Nekrosen finden sich dort, wo Phospholipase A und eine phospholipidreiche interstitielle Flüssigkeit

zusammentreffen. Deshalb treten die Nekrosen nach der Applikation von Phospholipase A vorwiegend im perivaskulären Bereich auf.

Bei der Ratte wird das Pankreas zugleich vom phospholipidreichen Aszites umspült. Da sowohl das vaskuläre Exsudat als auch der Aszites läppchenperipher liegen, finden sich auch von hier ausgehend die meisten Nekrosen. Das periductuläre Gewebe ist kaum betroffen. Sind erst einmal Pankreasepithelien nekrotisch geworden, steht der ganze Phospholipidgehalt der Zelle für eine Hydrolyse zur Verfügung. Zudem wird die Phospholipase A aus diesen Zellen freigesetzt. Die Trypsis weitet sich aus. Sie kommt erst dann zum Stehen, wenn die in gesundes Pankreasgewebe aus der Nekrose eindiffundierenden Lyso-phosphatide rascher ausgeschwemmt werden als sie einströmen.

Argumente:

Durch eine Unterbindung von Pankreasgang und Lymphabfluß entsteht viel leichter eine Parenchymschädigung, als wenn die Lymphbahnen unbeeinflusst bleiben (PAPF u. Mitarb.,¹⁹⁷¹). Im selben Sinne wirkt eine Stase der Zirkulation wie bei der terminalen Pankreatitis (BECKER, 1973); durch die verminderte Blutversorgung wird eventuell eingedrungene oder durch hypoxische

Nekrose freigesetzte Phospholipase A nicht ausgewaschen; sie baut aus vorhandenen Phospholipiden eine Lysolecithinkonzentration auf, die zur Nekrose bislang intakter Zellen führt. Die Kombination von Stase des Blutstroms (mit Hypoxie) und einer verstärkten Abpressung von Speichel ins Interstitium prädisponieren für eine Pankreatitis (HILDEBRAND, 1898). So werden zahlreiche Pankreatitiden bei Durchblutungsstörungen beschrieben (Übersicht bei BECKER, 1973).

Corticoide in pharmakologisch hohen Dosen verhindern beim Versuchstier die Entstehung einer tryptischen Pankreatitis. Wie ANDERSON u. Mitarb. (1964) durch Experimente mit intravasalem Methylenblau zeigten, tritt unter Corticoid-Einfluß kein Exsudat in das Interstitium über. Damit fehlt das Substrat, das durch die Wirkung der Phospholipase A in das toxische Lysolecithin gespalten wird.

Inwieweit Phospholipase A daneben noch hypoxisch geschädigte Zellen anzugreifen vermag, ist aus der Literatur nicht zu entnehmen. Wahrscheinlich ist Phospholipase A schon dazu in der Lage, da sie auch sphärozytische Erythrozyten angreifen kann. Ein ähnlicher Effekt wie bei der Trypsinwirkung auf isolierte Zellen (BECKER u. Mitarb., 1963) ist denkbar. Sicherlich ist die Hypoxie nur ein zusätzlicher Faktor. Durch voll-

ständige Unterbindung der arteriellen Versorgung ist erst nach längerer Zeit eine tryptische Nekrose zu erzeugen (MOSER u. Mitarb., 1967; SCHMITZ-MOORMANN, 1967, 1970).

Stellung der Phospholipase-A-Pankreatitis zu anderen experimentellen Pankreatitiden

Die Leichtigkeit, mit der beim Versuchstier eine akute tryptische Pankreatitis erzeugt werden kann (BANKS, 1971), führte zur Beschreibung zahlreicher Methoden und Substanzen, die eine tryptische Nekrose in der Bauchspeicheldrüse hervorrufen.

Morphologische Ähnlichkeit besteht insbesondere zwischen der Phospholipase-A- Natrium-Tauroglycocholat-pankreatitis und der durch ein Schwartzman-Sanarelli-Phänomen ausgelösten Pankreatitis, die von THAL und BRACKNEY (1954) beschrieben wurde. KORN (1963) gelang es, sie von der primär tryptischen Pankreatitis durch die unterschiedliche Lage des Initialschadens abzugrenzen: bei der tryptischen Nekrose werden zuerst die Azinusepithelien zerstört, dann sekundär, wo die Pankreatitis "auf ein Gefäß trifft", das Gefäß. Bei der Schwartzman-Pankreatitis sind die Verhältnisse umgekehrt: zunächst der Gefäßschaden, dann der Azinusschaden.

Die Phospholipase-A-Pankreatitis nimmt eine Mittelstellung ein: sie beginnt dort, wo Phospholipase A auf ein

vaskuläres Exsudat, durch Stoffe oder Manipulation erzeugt, trifft. Dies ist in aller Regel perivasal. Hier greift das entstehende Lysolecithin und -kephalin sowohl die Azinuszellen als auch die Gefäße an, wie unsere Versuche zeigen, und wie auch aus der Literatur bekannt ist (WANKE, 1970; WANKE u. Mitarb., 1968). Die scharfe Trennung zwischen vaskulärem und kanalikulärem Exsudat ist nicht gerechtfertigt, da jedes kanalikuläre Ödem ein vaskuläres nach sich zieht (BECKER, 1973). Ein deutlicher Unterschied zwischen Phospholipase-A-Pankreatitis und der Schwartzman-Pankreatitis besteht im Exsudat: bei unseren Versuchen zeigt sich zwar stets ein fibrinöses, aber kaum je ein hämorrhagisches Exsudat, wie es für die Schwartzman-Pankreatitis charakteristisch ist.

Neben dieser Schwartzman-Reaktion, dem "mißratenen Verwandten der eigentlichen Immunreaktion" (HUMPHREY u. Mitarb., 1972), wurde eine Komplementpankreatitis beschrieben (SEELIG u. Mitarb., 1975 a, b, c). Wahrscheinlich ist sie von der Pankreatitis, die durch ein lokales Schwartzman-Phänomen ausgelöst wird, pathogenetischen gar nicht so weit entfernt. Jüngere Arbeiten zeigen, daß die Nekrosen bei der Schwartzman-Reaktion durch aktives Komplement ausgelöst werden (FONG u. Mitarb., 1974; PILLEMER u. Mitarb., 1955). Warum bei Ratten zwar eine Komplement-Pankreatitis ausgelöst werden kann,

nicht hingegen eine Schwartzman-Reaktion (SHWARTZMAN, 1932), ist unklar.

Komplement ist das einzige System im Körper, das unveränderte lebende Zellen durch eine Membranalteration mit nachfolgender Zellschwellung zur Zytolyse bringt. Morphologisch zeigen sich dabei (an Bakterien, Tumorzellen und Erythrozyten) die nach DOURMASHKIN benannten Löcher. Sie entstehen durch Störungen der Lipidzusammensetzung (HUMPHREY u. Mitarb., 1972) und unterscheiden sich nicht von Löchern, die durch die Einwirkung von Saponinen und anderen Detergentien auf die Zellmembran entstehen (ANSELL u. Mitarb., 1964; DAVID, 1970).

Komplement kann durch eine Antigen-Antikörperreaktion entstehen (im Normalfall) oder durch proteolytische Fermente auf unspezifischem Weg aktiviert werden. Besonders Trypsin führt zu einer Aktivierung. Wie es bei einer Natrium-Desoxycholatpankreatitis zu einer Komplementaktivierung kommt, bleibt unklar. Jedenfalls wurde dabei eine Komplementablagerung zwischen und um die Azini beobachtet bei gleichzeitigem Abfall des Serumkomplements. Die Verfasser führen sogar die toxische Wirkung der Gallensäuren auf eine Aktivierung von Komplement zurück (SEELIG u. Mitarb., 1975 b).

Durch Injektion von Antikörpern gegen die Basalmembran der Ductuli und damit verbundener Aktivierung des

Komplementsystems auf spezifischem Wege können durch eine deviated lysis oder reactive lysis ebenfalls akute Komplement-Pankreatitiden hervorgerufen werden (SEELIG u. Mitarb., 1976).

Das tertium comparationis bei diesen verschiedenen Pankreatitiden ist das Lysolecithin. Es stellt wahrscheinlich das zytolytische Prinzip der Komplementreaktion dar, wie sich aus chromatographischen Untersuchungen ergibt. Insbesondere die unspezifische Aktivierung von Komplement, etwa durch Trypsin, wird von einer gleichzeitigen Freisetzung von Lysolecithin begleitet (FISCHER, 1964; FISCHER u. Mitarb., 1961). Bei der Antigen-Antikörper-Reaktion soll eine Phospholipase A aktiviert werden und Lysolecithin bilden (KELLER, 1962; PHILLIPS u. Mitarb., 1965; PHILLIPS u. Mitarb., 1965).

Damit wäre der Unterschied zwischen einer durch Phospholipase A hervorgerufenen Pankreatitis einerseits und durch Komplementaktivierung (evtl. sogar durch Schwartzman-Sanarelli-Phänomen) hervorgerufenen tryptischen Nekrose andererseits nicht mehr sehr groß.

Für alle drei Formen sind gleiche Voraussetzungen notwendig: zum ersten eine Serum-Diapedese, bei der selbst große Proteine/Lipoproteine aus den Gefäßen austreten, zum zweiten ein geringer Abfluß von entstandenem Lyso-

lecithin. In allen drei Fällen würde die endgültige Zytolyse durch das gleiche Endprodukt, nämlich Lysolecithin (und -kephalin?), eintreten.

Das morphologische Substrat in Bezug auf die Azinuszelle und die Lage der Nekrosen müßte damit gleich sein: sowohl die Komplementpankreatitis als auch die durch Phospholipase A erzeugte Pankreatitis und die Lysolecithinpankreatitis müßten in den Zellmembranen zu DOURMASHKIN-Löchern führen. Auch die Verteilung der Nekrosen im Pankreas müßte übereinstimmen: sowohl Phospholipase-A-Pankreatitis als auch Komplement- und Schwartzman-Pankreatitis wären auf Diapedese von Plasmabestandteilen angewiesen. Sie werden sich also bevorzugt perivasal finden, weniger im Bereich der Äste des Gangsystems.

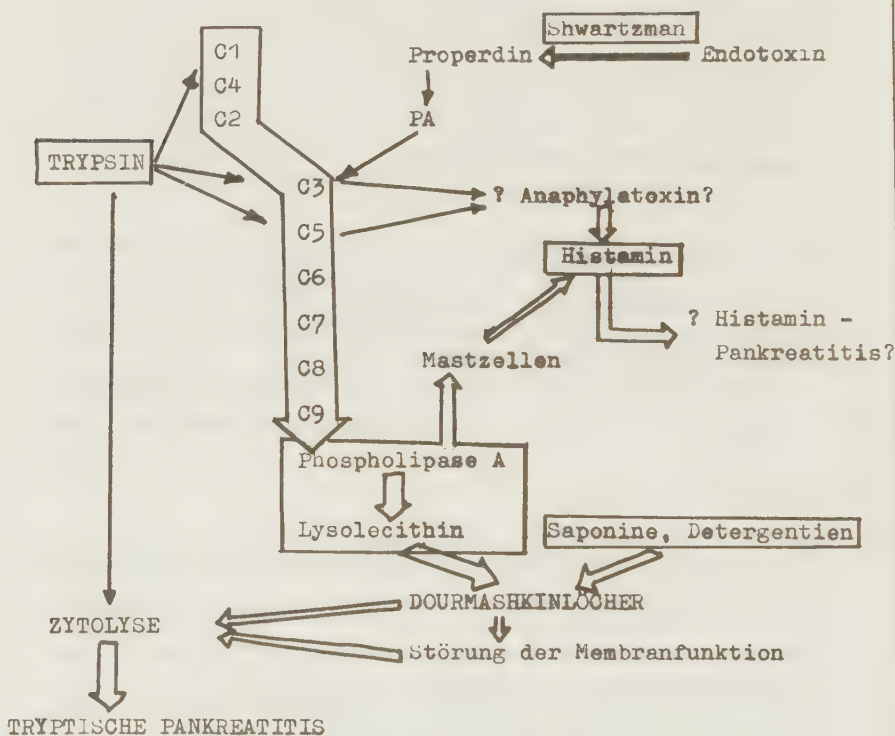
Der einzige Unterschied zwischen der Phospholipase-A-Pankreatitis und der Komplement-Pankreatitis bestünde darin, daß die biologisch aktiven Vorstufen des Komplements bei der Phospholipase A fehlen: SAC 1423, das an Immunadherenz, Phagozytose und Konglutination beteiligt ist, als auch SAC 1423567, das irgendwie eine Rolle bei der Chemotaxis spielt (HUMPHREY u. Mitarb., 1972). Wahrscheinlich aber geht dieser Effekt ohnehin bald im pankreatitischen Geschehen unter, wenn der Circulus vitiosus der tryptischen Nekrose in Gang gekommen ist.

Davon abgesehen, bewirkt Lysolecithin auch ohne SAC 1423567 eine granulozytäre Reaktion.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen werden die Richtigkeit dieser Hypothesen überprüfen müssen. Ihr Ergebnis könnte zumindest einige der experimentellen Modelle der menschlichen Pankreatitis auf das gleiche ätiopathogenetische Grundprinzip, nämlich eine gestörte Membranfunktion der Zelle, zurückführen.

Es folgt ein Schema über die Zusammenhänge zwischen Komplementpankreatitis, Schwartzmanpankreatitis und Phospholipase-Lysolecithinpankreatitis.

Zusammenhang zwischen Komplement-Pankreatitis, Schwartzman-Pankreatitis, Histaminpankreatitis und der durch Phospholipase A oder Lysolecithin erzeugten Pankreatitis



- Ausgangspunkte zur Erzeugung einer Pankreatitis
- Komplementsystem
- wirkt auf, bewirkt

Zusammenfassung

Das Ziel dieser Arbeit ist es, die Wirkung von Phospholipase A (EC 3.1.1.4) mit und ohne Zusatz von Gallensalzen und von Lysolecithin auf lebendes Gewebe zu untersuchen. Dazu injizierten wir die genannten Substanzen in Pankreas und Testes von Ratten und untersuchten diese Organe nach unterschiedlich langer Zeit makroskopisch und im histologischen Schnitt.

Unsere Versuche zeitigten folgende Ergebnisse:

1. Die Injektion von Phospholipase A erzeugt auch ohne die aktivierende Wirkung von Natrium-Tauroglycocholat Nekrosen im Rattennoden. Bei Zusatz dieser Gallensäuren ist ihre Ausdehnung größer. Im Pankreas erzeugt Phospholipase A nur unter Zusatz von Gallensalzen oder einer Injektion unter hohem Druck ausgedehntere Nekrosen.

2. Es bestehen im Hoden keine prinzipiellen morphologischen Unterschiede zwischen Nekrosen, die durch Phospholipase A und durch Lysolecithin hervorgerufen werden. Daraus und aus Arbeiten, die eine fehlende Wirkung von Phospholipase A auf gewaschene Zellsuspensionen beschreiben, schließen wir, daß die nekrotisierende Wirkung von Phospholipase A (schließlich?) durch Lysolecithin hervorgerufen wird.
3. Im Rattenpankreas unterscheidet sich die Wirkung einer Lysolecithininstitution von jener, die durch Phospholipase A (und Gallensalzen) entsteht. Bei der intraductulären Injektion von Lysolecithin entstehen Nekrosen vor allem in der Umgebung von Pankreasgängen, das Epithel des Ductus pancreaticus und der Ductuli wird zerstört.
Nach der Institution von Phospholipase A mit Gallensalzen finden sich vor allem perivasal gelegene Nekrosen.
4. Phospholipase A benötigt als Substrat lipoprotein-gebundene Phospholipide. Sie sind im entzündlichen Exsudat und im Aszites enthalten und können auch ohne die aktivierende Wirkung von Gallensalzen zu Lysolecithin hydrolysiert werden. Nekrosen treten nach der Injektion von Phospholipase A dann auf,

wenn die Bildungsgeschwindigkeit des Lysolecithins größer ist als der Aktivitätsverlust des Enzyms und die Ausschwemmung von Lysolecithin.

Die Durchblutung eines Organs steht im umgekehrten Verhältnis zur Ausprägung der Nekrose. So ist es z.B. mit den angewendeten Methoden nicht möglich, durch die Injektion von Lysolecithin oder Phospholipase A in der Leber Nekrosen zu erzeugen. Zelluntergänge in diesem Organ bei experimenteller Pankreatitis treten nur bei gleichzeitigem, protrahierten Kollaps auf. Bei der geringeren Durchblutung des Rattenhodens entstehen durch die Injektion von Phospholipase A oder Lysolecithin wesentlich ausgeprägtere Nekrosen.

5. Aus diesen Versuchen schließen wir auf folgende Pathogenese von Nekrosen nach der Injektion von Phospholipase A:

Nekrosen entstehen durch das Zusammentreffen von "Speichelödem" oder dem Phospholipase-A-Depot und dem entzündlichen Extravasat, das durch diesen "flüssigen Fremdkörper" (BECKER, 1973) hervorgerufen wird. An diesen Stellen wird das toxische Lysolecithin aus den lipoproteingebundenen Phospholipiden hydrolysiert und zerstört die Zellen, ohne sie zu koagulieren. Dadurch stehen mehr spaltbare

Phospholipide aus den (jetzt angreifbaren) Zellmembranen für die Umwandlung in Lysophosphatide zur Verfügung. Die Konzentration der toxischen Stoffe steigt.

Gallensalze, die in der verwendeten Konzentration allein nicht toxisch sind, fördern die Entstehung eines entzündlichen Exsudats. Daneben hemmen sie die Blutzirkulation und die Ausschwemmung toxischer Substanzen aus dem Interstitium. Im Pankreas führen sie zur "ersten Nekrose", die durch Freisetzung von Enzymen und Phospholipiden den Circulus vitiosus der akuten Pankreatitis in Gang bringen.

6. An Hand der Literatur und der Kombination dieser Befunde werden die Nekrosen bei der experimentellen Schwartzman-, Komplement-, Immun- und Trypsin-Pankreatitis auf das gleiche toxische Prinzip, nämlich Lysolecithin, zurückgeführt.

Literatur

- ALTMANN, P.L., D.S. DITTMER (Hg.) BIOLOGY DATA BOOK 2nd
edition Federation of the American
Society for experimental Biology 1972
- ANDERSON, M.C.: Venous stasis in the transition of
edematous Pancreatitis to Necrosis
JAMA 16: 534-537 (1963)
- ANDERSON, M.C.: Necrotizing properties of human blood
following incubation with autologous
pancreatic secretion
S. Surg. Res. 5: 239-244 (1965)
- ANDERSON, M.C.: Hepatic morphology in the normal and
inflamed pancreas
Arch. Surg. 92: 664-671 (1966)
- ANDERSON, M.C., D.L. BOOHER, T.B. LIM: Treatment of acute
pancreatitis with adrenocorticosteroids
Surgery 55: 551-558 (1964)
- ANDERSON, M.C., R.J. HAYS, F.H. THORNTON: Role of calcium
in necrotizing pancreatitis produced
with enzyme digested blood
J. Amer. Med. Ass. 186: 999-1001 (1963)
- ANDERSON, M.C., S.B. NEEDLEMAN, L.E. GRAMMATICA, I.R.
TORANTO, D.R. BRIGGS: Further inquiry
into the pathogenesis of acute pancrea-
titis
Arch. Surg. (Chicago) 99: 185-192 (1969)
- ANDERSON, M.C., W.R. SCHILLER: Microcirculatory dynamics
in the normal and inflamed pancreas
Amer. J. Surg. 115: 118-127 (1968)
- ANSELL, G.B., J.N. HAWTHORNE: Phospholipids. Chemistry,
Metabolism and Function
Amsterdam 1964
- ARAI, T.: Pancreatitis in the rat.
Proc. Soc. Exp. Biol. 119: 1120-1123 (1965)

- ARNESJÖ, B.: The formation of Lysolecithine in rat pancreas after bile-salt-pancreatitis
Acta Chir. Scand. 25: 557-589 (1971)
- ARNESJÖ, B.: Pancreatic Phospholipase. Physical, chemical and possible aetiologic role in acute pancreatitis
Thesis Univ. Lund (1968)
- ARNESJÖ, B.: Intracellular distribution of phospholipase A in the rat pancreas
Acta Physiol. Scand. 81: 170-175 (1971)
- ARNESJÖ, B., A. GRUBB: The activation, purification and properties of rat phospholipase A₂
Acta Chem. Scand. 137: 351-354 (1971)
- ATTWOOD, D., L. SAUNDERS: The effect of some salts on the micelles in ultrasonically irradiated lecithine sols
Biochim. Biophys. Acta 116: 108-113 (1966)
- AUGER, C.: Acinous cell cancer of pancreas with extensive fat necrosis
Arch. Path. 43: 400-405 (1947)
- AUGUSTYN, J.M., B. PARSA, W.B. ELLIOT: Structural and respiratory effects of phospholipase A on rat liver mitochondria
Biochim. Biophys. Acta 197: 185-196 (1970)
- AWASHI, Y.C., R. BEREZNEY, F.J. RUZICKA: Action of Phospholipase A on mitochondrial cristae
Biochim. Biophys. Acta 189: 457-460 (1969)
- BACQ, Z.M. (Hg.): *Foundamentals of Biochemical Pharmacology*; Oxford 1971
- BALSER, W.: Über Fettgewebsnekrose, eine zuweilen tödliche Krankheit der Menschen
Virchows Arch. Path. Anat. 90: 520-535 (1882)
- BANKS, P.A.: Acute pancreatitis
Gastroenterology 61: 382-397 (1971)
- BARGMANN, W.: Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen.
Stuttgart 1967

- BARRACLOUGH, B.H., G.A.E. COUPLAND: Acute Pancreatitis.
A Review
Austr. New Zeal. J. Surg. 41: 211-218
(1972)
- BAUM, L.: Die örtlichen Wirkungen subcutaner
Fermentinjektionen
Frankf. Z. Path. 53: 220-233 (1939)
- BEAUFAY, H., C.de DUVE: Tissue fraction studies.
9. Enzymic release of bound hydrolases
Biochem. J. 73: 604-609 (1959)
- BECK, J.T., D.S. KAHN, J. SOLYMAR: The role of pancreatic
enzymes in the pathogenesis of acute
pancreatitis. III. Comparison of the
pathological and biochemical changes
in the canine pancreas to intraductal
injection with bile and with trypsin
Gastroenterology 46: 531-542 (1964)
- BECKER, V.: Ödemstudien am Pankreas
Verh. Dt. Ges. Path. 38. Tgg. (1954)
210-215
- BECKER, V.: Sekretionsstudien am Pankreas.
Abhandlungen normale und pathologische
Anatomie, Heft 1. Hg.: W. Bargmann,
W. Doerr, Stuttgart 1957
- BECKER, V.: Fortschritte in der Morphologie der
Pankreaserkrankungen
Jb. ärztl. Fortb. 9: 321-331 (1961)
- BECKER, V.: Akute und chronische Pankreatitis.
Pathologisch-anatomische Grundlagen
Dtsch. med. J. 14: 555-558 (1963)
- BECKER, V.: Die Bedeutung der akuten Pankreatitis
für die Entstehung der chronischen
Pankreatitis
Therapiewoche 14: 114-116 (1964 a)
- BECKER, V.: Histochemie des Pankreas.
Rapports publiés a l'occasion du Congrès
International de Gastroenterologie
Vol. I, 134-137 Bruxelles (1964 b)
- BECKER, V.: Tryptische Pankreatitis und tryptische
Nekrose
Dtsch. med. Wschr. 89: 671-676 u. Bild
689-690 (1964 c)

- BECKER, V.: Funktionelle Morphologie der Bauchspeicheldrüse, dargestellt an seltenen Krankheitsbildern
Med. Welt 1711-1719 (1967)
- BECKER, V.: Bauchspeicheldrüse. Inselapparat ~~ausge-~~
~~nommen~~
Spezielle pathologische Anatomie Bd. 6
Hg.: W. Doerr, G. Seifert, E. Uehlinger;
Berlin, Heidelberg, New York 1973
- BECKER, V.: Allgemeine Pathologie der Bauchspeicheldrüse in:
Handbuch der Inneren Medizin, begr. v.
L. Mohr, R. Staehlin, hrg. von H.
Schwiegk. III. Bd., Teil 6, Pankreas,
hrsg. v. M.M. Forell; Berlin, Heidelberg,
New York 1976
- BECKER, V., J. SCHÄFER: Die Bedeutung des Speichelödems
für die Pankreasatrophie nach experimenteller Gangunterbindung
Virchows Arch. Path. Anat. 330: 243-266
(1957)
- BECKER, V., W. WILDE: Pankreasschäden durch Trypsin in
vitro
Klin. Wschr. 41: 73-75 (1963)
- BELPANTI, S.: Über das Hämoleukolysin des Pankreas
und dessen Bezug zum Delezenne-
Fournau'schen Lysolecithin
Biochem. Zschr. (Berlin) 153/154:
148-166 (1924)
- BELPANTI, S.: (1925) zit. nach Phillips und Mitarb.
(1965)
- BELLEVILLE, J., J. CLEMENT: Activation par trypsine de la
phospholipase A du suc pancreatique
d'homme et de rat
Bulletin Soc. Chim. Biol. Paris 50:
1419-1424 (1968 a)
- BELLEVILLE, J., J. CLEMENT, J.P. DIDIER: Activité phospholipasique A₂ du suc pancreatique et du pancréas de chien.
J. Physiol. (Paris) 60, suppl. 2:
398-399 (1968 b)

- BELLEVILLE, J., J. CLEMENT: Activité phospholipasique A₂ d'extraits de suc pancréatique et de pancréas d'Homme, de rat et de chien
J. Physiol. (Paris) 61 suppl. 1: 87 (1969)
- BERNARD, C.: Memoire sur le pancréas et sur le rôle du suc pancréatique et dans les phénomènes digestifs
C.R. Acad. Sci. (Paris) 1: Suppl.: 379-563 (1856)
- BERNARD, M.C.: Activations des phospholipases A₂ par l'éthanol
C.R. Acad. Sci. Paris (D) 274: 1964-1966 (1972)
- BJORNSTAD, P.: Phospholipase activity in rat liver microsomes, studied by the use of endogenous substrates
J. Lipid Research 7: 612-620 (1966 a)
- BJORNSTAD, P.: Phospholipase activity in rat liver microsomes, studied by the use of endogenous substrates
Biochim. Biophys. Acta 116: 500-510 (1966 b)
- BIALOCK, A., C.S. ROBINSON, R.S. CUNNINGHAM, M. GRAZ: Experimental studies on lymphatic blockage
Arch. Surg. 34: 1049-1051 (1937)
- BLEYL, U.: Die sogenannte nervale Pankreatitis und ihre pathophysiologischen Grundlagen
Z. Gastroenterologie 1: 335-350 (1963)
- BLEYL, U., K.H. GRÜZINGER, W. NAGEL, M. WANKE: Histotopochemie aktiver proteolytischer Enzyme bei der experimentellen, auto-digestiven Pankreatitis
Virchows Arch. Path. Anat. 342: 26-37 (1967)
- BLOCK, M.A., K.G. WAKIM, A.H. BAGGENSTOSS: Experimental studies concerning factors in the pathogenesis of acute Pancreatitis
Surg. Gyn. Obst. 99: 83-90 (1954)
- BLOOM, W., D.W. FAWCETT: A Textbook of Histology, 9th edition, Philadelphia (1968)

- BONSEN, P.P.M., G.J. BURBAOH-WESTERHUIS, G.H. de HAAS, L.L.M. van DEENEN: Chemical synthesis of some lecithine analogues potential inhibitors of Phospholipase A
Chem. Phys. Lipids 8: 199-220 (1972 a)
- BONSEN, P.P.M., G.H. de HAAS, W.A. PIETERSON, L.L.M. van DEENEN: Studies on phospholipase A and its zymogen from porcine pancreas. The influence of chemical Modification of lecithine-structure on substrate properties
Biochim. Biophys. Acta 270: 364-382 (1972 b)
- BONTA, J.L., J.E. VINCENT, J. NOORDHOEK: The rôle of direct lytic factor and phospholipase A in the local hemorrhagic effect of Naja naja venom
J. Formosan Med. Assoc. 71: 333-335 (1972)
- BORGSTRÖM, B.: Studies of the phospholipids of human bile and small intestinal content
Acta chem. Scand. 11: 749 (1957)
- BOS, A.W.A.: Acute Pancreasnecrose
T. Diergeneeskde 79: 246-253 (1954)
- BRAUNSTEINER, H.: Akute Pankreatitis und Hyperlipidämie
Dtsch. Med. Wschr. 93: 492-493 (1968)
- BREITHAUPT, H., E. HABERMANN: Mastzelldegranulierendes Peptid (MCD-Peptid) aus Bienengift. Isolierung, biochemische und pharmakologische Eigenschaften
Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharm. Exp. Path. 261: 252-270 (1968)
- BRIERLEY, G.P., A.J. MEROLA, S. FLEISCHER: Studies on the electron-transfer system XLIX. Sites of Phospholipid-involvement in the electron-transfer chain
Biochim. Biophys. Acta 64: 218-228 (1962)
- BRUNS, O., W. EWIG: Die physikalisch chemischen Eigenschaften der Ergüsse
in: Kraus, Brugsch (Hg.) Bd. 3: 461 (1924)

- BUCHNER, F., E. LETTERER, F.C. ROULET (Hrsg.): "Handbuch der allgemeinen Pathologie.
Berlin, Göttingen, Heidelberg 1955 ff.
- BURSTEIN, C., A. LOYTER, E. RACKER: Effect of Phospholipases on the structure and function of mitochondria
J. Biol. Chem. 246: 4075-4082 (1971)
- BUSTOS-OBREGON, E., A.F. HOLSTEIN: On structural patterns of lamina propria of human seminiferous tubules
Z. Zellforsch. Mikroskop. Anatomie 141: 413-425 (1973)
- CHIARI, H.: Über die sogenannte Fettnekrose
Prager Med. Wschr. 8: 285-299 (1883)
- CHRISTIANSEN: zit. nach Wolman 1964
- COHRS, P., R. JAFFE, H. MEESSEN: Pathologie der Laboratoriumstiere
Berlin 1958
- COLEMAN: zit. nach Ansell u. Mitarb. (1964)
- CONDREA, E., C. KLIBANSKY, R. KERET, A. de VRIES: Action of bovine and human pancreatic phospholipase A on lipoprotein-bound phospholipids
Nature 200: 1096-1097 (1963)
- CONDREA, E., A. de VRIES, J. MAGER: Hemolysis and splitting of human erythrocyte phospholipids by snake venoms
Biochim. Biophys. Acta 84: 60-73 (1964)
- COUPLAND, G.: Pancreatic ascites: a rare complication of pancreatitis in childhood
Aust. N. Z. Surg. 40: 252-255 (1971)
- COUROT, M., M. HOCHEREAU de REVIERS, R. ORTAVANT: Spermatogenesis
in: Johnson, A.D. u. Mitarb. (1970)
- COURTICE, F.C.: (1959, 1960) zit. nach Meessen, H. (1972)

- CRAMP, F., D. FISHER, J.I. HOWELL, J.A. LUCY:
Chemically induced cell fusion
J. Cell Sci. 769-787 (1972)
- GREUTZFELDT, W., H. SCHMIDT, E. LINNEWEH:
The pathogenesis of pancreatitis
Proc 3rd World Congress of Gastroentero-
logy Tokyo 1966. Vol IV 314-317 (1966)
- GREUTZFELDT, W., H. SCHMIDT: Aetiology and pathogenesis
of pancreatitis (Current concepts)
Scand. J. Gastroenterology Suppl. 6:
47-62 (1970)
- CROCE, C.M., W. SAWICKI, M. KRITSCHESKY: Induction of
homocaryocyte, heterocaryocyte and
hybrid formation by lysolecithin
Exp. Cell. Res. 67: 427-435 (1971)
- DANIELLI, J.F., H. DAVSON: J. Cellular. Comp. Physiol. 5:
495-508 (1935)
- DAVID, H.: Protoplasmalogia X 1. Zellschädigung
und Dysfunktion
Wien, New York (1970)
- DAWSON, R.M.C., N. HEMMINGTON, D.B. LINDSAY:
Biochem. J. 77: 226-230 (1960)
- DAY, C.E., R.S. LEVY: A generalized functional role for
phospholipids
J. Theor. Biol. 22: 541-548 (1969)
- DEBUCH, H., M. CLARA: Lipide (erster Teil) Stuttgart 1965
in: Graumann, W., K. Neumann (Hg.)
Handbuch der Histochemie 1958 ff.
Bd. 5 (1965)
- DEENEN, L.L.M. van, G.H. de HAAS: The substrate specificity
of phospholipase A
Biochim. Biophys. Acta 70: 538-553 (1963)
- DELEZENNE: Action du suc pancréatique et du suc
intestinal sur les hématies
C. R. Soc. Biol. 1903: 171 ff.
- DHOM, G., F. STÄDTLER: Männliche Geschlechtsorgane
in: Büchner, F., E. Grundmann
Spezielle Pathologie Bd. 2, München 1975

- DOBIASOVA, M. V. POKORNY, Z. DRAHOTA: Properties of rat liver mitochondria treated with Phospholipase A and C and with Lysophospholipids
Physiologia Bohemoslavaca Praha 20: 173-180 (1971)
- DOERR, W.: Pankreatitis. Pathogenese, Formen und Häufigkeit
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 292: 552-588 (1959)
- DOERR, W.: Pathogenese der akuten und chronischen Pankreatitis
Verh. dtsh. Ges. Inn. Med. 70: 718-758 (1964)
- DOERR, W.: Spezielle pathologische Anatomie Bd. 2
Berlin, Heidelberg, New York 1970
- DOERR, W., P. DIEZEL, K.H. GRÖZINGER, H.G. LASCH, W. NAGEL, J.A. ROSSNER, F. WILLIG: Pathogenese der experimentellen autodigestiven Pankreatitis
Klin. Wschr. 43: 125-136 (1965)
- DOERR, W., G. ULE: Spezielle pathologische Anatomie Bd. 3
Berlin, Heidelberg, New York 1970
- DOERR, W., G. QUADBECK: Allgemeine Pathologie 2. Aufl.
Berlin 1973
- DOIZAKI, W.M., L. ZIEVE: Use of trypsin to eliminate snake venom phospholipase A - activity in lysolecithine prepared from ovoidlecithin
Biochim. Biophys. Acta 70: 703-704 (1963)
- DOS REIS, L.: Visceral lesions in acute pancreatitis
Arch. Surg. 87: 604-608 (1963)
- DREILING, D.A., H.D. JANOWITZ, C.V. PERRIER: Pancreatic inflammatory disease. A physiological approach
New York, Evnaszon, London 1964
- DUMONT, MARTELLI 1968: zit. nach Becker 1973
- DUPERRAT, B., A. CAQUIERES, V. BISMUTH: Maladie de weber-Christian
Bull. Mem. Soc. Med. Hôp. Paris 114: 1235 (1963)

- DUPREZ, A., S. GODART, R. PLATTEBORSE: La voie de dérivation interstitielle et lymphatique de la sécrétion exocrine du pancréas
Bull. Acad. Roy. med. Belg. 3: 691-706 (1963)
- DUPREZ, A., S. GODART, R. PLATTEBORSE, J. LITVINE, J.M. DUPONT: La voie de dérivation interstitielle et lymphatique de la sécrétion exocrine du pancréas. Rapports publiés a l'occasion du Congrès international VII de Gastroenterologie Vol I Thème I-IV Bruxelles 1964
- EDLUND, Y., R. EKHOIM, T. ZELANDER: The morphological basis of pancreas edema. A light and electrone-microscopical study on rats
Acta Chir. Scand. 123: 389-395 (1962)
- EGDAHL, R.H.: Mechanism of blood enzymes changes following the production of experimental pancreatitis
Ann. Surg. 148: 389-399 (1958)
- EHRICH, W.E.: Die Entzündung in Büchner u. Mitarb. (Hg.) 1955 ff, Handbuch der allgemeinen Pathologie VII/ 1 Berlin 1958
- FARQUHAR, M.G., G.E. PALADE: Junctional complexes in various epithelia
J. Cell. Biol. 17: 375-412 (1963)
- FASSBENDER, H.G., G. GILLISEN: Das Verhalten zellständiger Antikörper gegenüber Komplement
Verh. dtsh. Ges. Path. 118-120 (1962)
- FAWCETT, D.W.: Ultrastructure of the Sertolicell in Handbook of Physiology. Sect. 7, Endocrinology, Vol. 5. Washington (1975)
- FIGARELLA, C.: Azymogen of phospholipase A in human pancreatic juice
Biochim. Biophys. Acta 227: 213-217 (1971)

- FISCHER, H., J. HAUPT: Das zytolysierende Prinzip von Serumkomplement
Z. Naturforschung 312-328 (1961)
- FISCHER, H.: Lysolecithine and the action of Complement
Ann. N. Y. Acad. Sci. 116: 1063-1070 (1964)
- FOLEY, J.J., E.H. ELWISON: Infusion of pancreatic enzymes into biliary radicals of liver. Study of influence using activated enzymes
Arch. Surg. 88: 589-595 (1964)
- FÖLSCH, E., P. DRINGS, H. WOHLBERG: Hämatologische Erkrankungen in Schettler, G. (Hg.)
Innere Medizin Bd. II (1972)
- FONG, J.S.C., K.O. ROTHER, I.A. GOOD: The rôle of complement in localized SHWARTZMAN-Reaction. Studies with congenitally C6-Deficient rabbits
Clin. exp. Immunol. 16: 77 (1974)
- FREDHOLM, B., O. HAEGGERMARK: Histamine release from rat mastcells induced by a mastcell degranulating fraction in bee venom
Acta Physiol. Scand. 69: 304-312 (1967)
- FREDHOLM, B., O. HAEGGERMARK: Histamine-release from rat mastcell granules induced by bee venom fractions
Acta Physiol. Scand. 71: 357-367 (1967)
- GAETANI, De: Hodenriesenzellen, referiert in
Zbl. allg. Path. 57: 259 (1933)
- GALLAI-HATCHARD, J.J., R.H. THOMPSON: Phospholipase A-activity of mammalian tissues
Biochim. Biophys. Acta 98: 128-136 (1965)
- GALLAI-HATCHARD, J.J.: The action of phospholipase A on the plasma membranes of rat liver cells
Europ. J. Biochem. 4: 68-75 Berlin (1968)
- GEOKAS, M.C.: The destructive capacity of elastase on pancreatic tissue in vivo and in vitro
Arch. Path. 86: 135 ff. (1968 a)

- GEOKAS, M.C.: 1968 b; zit. nach Becker 1973
- GEOKAS, M.C., R. MURPHY, R.D. KENNA; J.T. BECK: The rôle of elastase in acute pancreatitis
1. Intrapancreatic elastolytic activity in bile-induced acute pancreatitis in dogs
Arch. Path. Chicago 36: 117-126 (1968 c)
- GEOKAS, M.C., S.S. RAYYIS, H.F. CHIN, H. OHLSEN, J.J. PINCUS: Pancreatitis and hyperlipemia
Gastroenterology 56: 1159-1169 (1969 a)
- GEOKAS, M.C.: 1969 b; zit. nach Becker 1973
- GIER, J. de, L.L.M. van DEENEN, R.A. GEERDINK, K. PUNT, M.C. VERLOOP: Phosphatide patterns of normal, spherocytic and elliptocytic red blood cells
Biochim. Biophys. Acta 50: 383-384 (1961)
- GJONE, E., E. OFSTAD, P.F. MARTEN, E. AMUNDSEN:
Phospholipase activity in pancreatic exsudate in experimental acute pancreatitis
Scand. J. Gastroenterol. 2: 181-185 (1967)
- GJONE, A.: Fosfolipase A og akutt pankreatitt
Nord Med. 81: 373-374 (1969)
- GLADTKE, E., H.M. von HATTINGBERG: Pharmakokinetik
Berlin, Heidelberg, New York 1973
- GOTTFRIES, A.: Lysolocithine: a factor in the pathogenesis of acute cholecystitis. An experimental study on rabbits, based on clinical findings in humans
Acta Chir. Scand. 135: 213-217 (1969)
- GREEN: zit. nach David 1970
- GROSSMAN, M.J.: Experimental pancreatitis
AMA Arch. Int. Med. 96: 298-307 (1955)
- GUERRINI, G.: 1925; zit. nach Phillips et al. 1965
- GÜRICH, H.G.: Pankreatitis. Vorstellungen über Pathogenese und pathologische Anatomie
Hippocrates (Stuttgart) 44: 177-183 (1973)

- HAAS, G.H. de: Structure and enzymic properties of phospholipase A from porcine pancreas
Biochem. J. (London) 128: 9 P (1972)
- HAAS, G.H. de, J.L.M. van DEENEN: The stereospecific action of phospholipase A on B-Lecithins
Biochim. Biophys. Acta 70: 469-471 (1963)
- HAAS, G.H. de, N.M. POSTEMA, W. NIENWENHUIZEN: Purification and properties of an anionic zymogene of phospholipase A from porcine pancreas
Biochim. Biophys. Acta 159: 118-129 (1968)
- HABERMANN, E., B. KRUSCHE: Die Wirkung der Phospholipase A und C auf Plasmalipide und Erythrozyten in vivo
Biochem. Pharmacology 11: 400-401 (1962)
- HAGEN, P.O., E. OFSTAD, E. AMUNDSON: Experimental acute Pancreatitis in dogs
Scand. J. Gastroenterology 4: 89-96 (1969)
- HALLENBECK, G.A.: Biliary and pancreatic intraductal pressures
in: Handbook of Physiology 6/2 Washington 1967
- HALSE, Th.: 1948, 1949; zit. nach Hoppe-Seyler, Thierfelder 1953
- HALSTED: Retrojection of bile into the pancreas as a cause of acute hemorrhagic pancreatitis
Bull. Johns Hopkins Hosp. 12: 178 ff. (1901)
- HANAHAN, D.J.: Phospholipases
in: Boyer, P.D. (Hg.) The enzymes vol 5: 70-85 New York, London 1971
- HANSSON, K., J. LUNDH, U. STENRAM: Reflux of bile containing deconjugated bile acids as aetiological factor in acute hemorrhagic pancreatitis
2nd Weltkongreß Gastroenterologie. München Bd. IV (1962)
- HARRIS, H.: Chemotaxis of granulocytes
J. Path. Bact. 66: 135-146 (1953)

- HASHIHARA, S.: Phospholipidmetabolism in pancreatitis: effects of CDP-Cholin on Phospholipase A
Jap. J. Clin. Med. 29: 1408-1419 (1971)
- HATAO, M.: On aetiology and pathophysiology of acute pancreatitis with special reference to participation of phospholipase A
Arch. Jap. Chir. 38: 76-106 (1969)
- HAYASAKA, N., N. SASANO: Vascular and ductal patterns of pancreas by microradiography and their relation to lesions of pancreatitis
Tohoku J. exp. Med. 100: 327-347 (1970)
- HEINKEL, K.: Die Ratte als Versuchstier in der experimentellen Pankreasdiagnostik
II. Mitteilung: Die Erzeugung einer akuten hämorrhagischen Pankreatitis durch die Injektion von Gallensäuren in den Ductus pancreaticus
Klin. Wschr. 31: 815 (1953)
- HENKE, F., O. LUBARSCHE (Hg.): Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie
Berlin 1924 ff.
Bd. 5/3: Harnorgane, männliche Geschlechtsorgane; bearb. von H. Chiari, T. Fahr, G.B. Gruber, M. Koch, O. Lubarsch, R. Maresch, S. Oberndorfer et al.
Berlin 1931
Bd. 6/2: Verdauungsdrüsen; bearb. von W. Fischer, W. Gerlach, G.B. Gruber, R. Hauser, G. Herxheimer, E.J. Kraus, F.J. Lang, E. Roesner, R. Rössle, M. Thölle, A. Weichselbaum;
Berlin 1929
- HEYNINGEN, E. van: Secretion of proteins by the acinar cells of the rat pancreas as studied by EM-Radioautography
Anat. Rec. 148: 485-497 (1964)
- HILDEBRAND: Neue Experimente zur Erzeugung von Pankreatitis haemorrhagica und von Fettgewebnekrosen
Arch. Klin. Chir. (Berlin) Bd. 57: 435-437 (1898)
- HINSBERG, K., W. GEINITZ: in Hoppe-Seyler, Thierfelder (1953)

- HIPSCH, E.F.: Experimental tissue lesions with mixtures of human fat, soaps and cholesterol
Arch. Path. 25: 35 ff. (1938)
- HOFERICHTER, J.: Die Pathogenese der akuten hämorrhagischen Pankreasnekrose
Münch. Med. Wschr. 111: 654-658 (1968)
- HÖGBERG, B., P. UVNÄS: Further observations on the disruption of rat mesentery mast cells caused by 48/80, antigen-antibody-reactions and phospholipase A
Acta physiol. Scand. 48: 133-145 (1960)
- HOKIN, L.E.: Isolation of the zymogengranulas of dog pancreas and a study of their properties
Biochim. Biophys. Acta 18: 133-145 (1955)
- HOKIN, L.E.: Dynamic aspects of phospholipids during protein secretion
Intern. Rev. Cytol. 23: 187-208 (1967)
- HOLUB, K., P. OM: Glukagonbehandlung der akuten Pankreatitis
Zbl. Chir. 99: 748-750 Leipzig (1974)
- HOPPE-SEYLER, THIERFELDER: Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse, 10. Aufl., Hg. v. K. Lang, E. Lehnartz, G. Siebert, 5. Band 1953. Pathologische Flüssigkeitsansammlungen v. Hinsberg, K., W. Geinitz, 341-389
- HUMPHREY, J.H., R.G. WHITE: Kurzes Lehrbuch der Immunologie
2. Aufl., Stuttgart 1972
- IBRAHIM, S.A., H. SANDERS, R.H.S. THOMPSON: The action of Phospholipase A on purified phospholipids, plasma and tissue preparations
Biochem. J. 93: 588-594 (1974)
- IDÄNÄÄN-HEIKKILÄ, P.: Effect of local heat in vivo on the fine structure the basementmembrane and the Sertoli-Cells of the rat testis
Fertil. Steril 17: 689-695 (1966)
- IHMANN, G.: Über das Speichelödem des Pankreas
Inaug. Diss. F.U. Berlin (1955)

- INNERFELD, J., A. ANGRIST, A. SCHWARZ: Parenteral administration of trypsin; Clinical effects in 538 patients
J. Am. Med. Ass. 152: 597-605 (1953)
- JAIN, M.K.: Phospholipase: effect of n-alkanols on enzymatic hydrolysis of egg phosphatidylcholine
J. Membr. Biol. 14: 101-118 (1973)
- JAIN, M.K., CORDES: Enzymatic hydrolysis of lecithine: effect of structure, cholesterol content and sonication
J. Membr. Biol. 14: 119-134 (1973)
- JAMIESON, J., G.E. PALADE: Condensing vacuole conversion and zymogene granule discharge in pancreas exocrine cells: metabolic studies
J. Cell. Biol. 48: 503-522 (1971)
- JANKU, J.: 1971 in Bacq (1971)
- JOEST, E.: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere
Hg. J. Dobberstein, G. Pallaske, H. Stünzi, Berlin 1967
- JOHNSON, A.D., W.R. GOMES, N.L. VANDEMARK: The Testis
Vol. I Academic Press, New York, London 1970
- KANWAR, K.C.: Mode of formation of giant cells in testicular hyperthermia
Fertil. Steril 22: 778-783 (1971)
- KAST, A.: Pankreas in Joest 1967
- KEAY, L., S.A. WEISS, N. CIRULIS: Lysolecithine induced fusion of fibroblasts
In vitro 8: 19-25 (1972)
- KELLER, K.: Helv. Physiol. Pharm. Acta 20: 36 ff. (1962)

- KESTNER: Experimentelles zur Fettgewebnekrose
Virch. Arch. Path. Anat. 246: 305-306
(1923)
- KLIBANSKY, C., S. HENIG, J. SILOAH, A. de VRIES:
Conversion of lipoprotein bound lecithine to lysolecithine, induced by snake venom phospholipase A
Biochim. Biophys. Acta 70: 591-593
(1963 a)
- KLIBANSKY, C., A. de VRIES: Quantitative study of erythrocyte-lysolecithine interaction
Biochim. Biophys. Acta 70: 176-187
(1963 b)
- KLIBANSKY, C., Y. LONDON, A. FRENKEL: Enhancing action of synthetic and natural basic polypeptides on erythrocyte ghost phospholipid hydrolysis by phospholipase A
Biochim. Biophys. Acta 150: 15-23 (1968)
- KLINGE, C., H.W. ALTMANN: Exkretorisches Pankreas
in: F. Büchner, Grundmann E.: Spezielle Pathologie Bd. I, 5. Aufl., München 1974
- KLOPFENSTEIN, W.E.: Thermodynamics of binding lysolecithin to serum albumin
Biochim. Biophys. Acta 187: 272-274
(1969)
- KNIGHT, M.J., W.F. BALLINGER: Pathophysiology, progression and treatment of acute pancreatitis
Practice of Surgery Vol. 2
St. Louis (1975)
- KNIGHT, M.J., J.R. CONDON, J.L. DAY: Possible role of glucagon in the pathogenesis of acute pancreatitis
Lancet I: 1097-1099 (1972)
- KORN, K.J.: Hämorrhagisch-nekrotisierende Pankreatitis durch lokales Schwartzman-Phänomen. Ihre Abgrenzung von der tryptischen Pankreatitis
Frankf. Z. Path. 73: 203-227 (1963)
- KUNTZEN, H.: Orchitis phlegmonosa und vorzeitige Spermiogenese
Virch. Arch. Path. Anat. 258: 108-120
(1925)

- KUNZE, H., W. VOGT: Significance of Phospholipase A for prostaglandine formation
Ann. N. Y. Acad. Sci. 180: 123-125 (1971)
- KUNZE, H., N. NAHAS, M. WUKL: Phospholipases in human seminal plasma
Biochim. Biophys. Acta 348: 35-44 (1974)
- LANGERHANS, R.: Über multiple Fettgewebnsnekrose
Virch. Arch. Path. Anat. 122: 252-270 (1890)
- LANKISCH, P.G., W. VOGT: Direct hemolytic activity of phospholipase A 270: 241-247 (1972 a)
- LANKISCH, P.G., W. VOGT: Membrane changes which induce phospholipase A to lyse red cells.
Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmakol. Berlin 269: 404 (1971)
- LANKISCH, P.G., C. JACOBI, K. SCHONER: Bile salts-, lyso- lecithine- and saponine-induced potentiation of phospholipase A haemolysis
Fed. Europ. Biochem. Soc. Amsterdam Lett. 23: 61-64 (1972 b)
- LEMBECK, F.: Grundlagen der Pharmakodynamik
Verh. dtisch. Ges. Path. 56. Tgg. 17-29 (1972)
- LESTER, R.L., S. FLEISCHER: Studies on the electron transport system 27. The respiratory activity of acetone-extracted beef-heart mitochondria
Biochim. Biophys. Acta 47: 358-377 (1961)
- LETTERER, E.: Allgemeine Pathologie. Stuttgart 1959
- LINDLAR, F.: Das Auftreten von Lysophosphatiden bei der Autolyse
Naturwissenschaften 49: 543-544 (1962)
- LUKASCH, W.M.: Complications of acute pancreatitis
American J. Gastroenterol. 49: 120-125 (1968)

- MAGEE, W.L., J. GALLAI-HATCHARD, H. SANDERS, R.H.S. THOMPSON: Phospholipase A from human pancreas
Biochem. J. 83: 17-25 (1961)
- MANN, T.: Biochemistry of Semen
in: Handbook of Physiology Sect. 7
Endocrinology, Vol 5 Male reproductive system. Washington 1975
- MARINETTI, G.V.: In vitro lipid transformations in serum by phospholipase A
Biochim. Biophys. Acta 46: 468-478 (1961)
- MARINETTI, G.V.: The action of phospholipase A on lipoproteins
Biochim. Biophys. Acta 98: 554-565 (1965)
- MAROUX, S., A. PUIGSERVER, V. DLOUHA: Amino acid sequence of phospholipase A from porcine pancreas
Biochim. Biophys. Acta: 188: 351-352 (1969)
- MARPLES, E., R.H.S. THOMPSON: The distribution of phospholipase B in mammalian tissues
Biochem. J. 74: 123-127 (1960)
- MASSHOF, W., F. LINDLAR, H.J. STOLPMANN: Morphologische und lipidchemische Untersuchungen zur Autolyse von Leber und Pankreas
Virchows Arch. Path. Anat. 337: 340-352 (1964)
- MAXIMOW, A.: Die histologischen Vorgänge bei der Heilung von Hodenverletzungen und die Regenerationsfähigkeit des Hodengewebes
Beitr. path. Anat. 26: 230-319 (1899)
- MC ARDLE, B., R.H.S. THOMPSON, G.M. WEBSTER: The action of lysolecithine and of snake venom on the whole cell preparation
J. Neurochem. 5: 135-144 (1960)
- MC CUTCHEON: Chemotaxis
Arch. Path. 34: 167 ff. (1942)
- MC CUTCHEON, A.D., D. RACE: Experimental pancreatitis
Ann. Surg. 158: 233-239 (1963)
- MC PHEDRAN, N.T., S.B. LEE: Effect of intraductal or intravascular norepinephrine infusion on the development of acute hemorrhagic pancreatitis
Surgery (St. Louis) 53: 490-494 (1963)

- MEESSEN, H.: (Hg.) Lymphgefäßsystem
in Büchner u. Mitarb. 1955 ff. (1972)
- MODOLELL, M.: The action of purified phospholipase B
in inflammation
Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. 43:
724-739 (1972)
- MOLLAY, C., G. KRELL: Enhancement of bee venom phospholipase A₂ activity by mellitine and polymyxine²-B
Fed. Europ. Biochem. Soc. Amsterdam Lett.
46/1 141-144 (1974)
- MOLNAR, J.J., J.J. SCHNEIDER, S. TINDEL, D. SHAPIRA, D. STRATE: Hemorrhagic pancreatitis induced by elastase
Acta Morph. Aca. Sci. Hung. 16: 213-221
(1968)
- MOORE, J.H., D.L. WILLIAMS: A time study of the hydrolysis of lecithine by snake venom phospholipase A
Biochim. Biophys. Acta 70: 348-351 (1963)
- MORRIS, R.: Studies of the development of pancreatic necrosis in the living mouse.
Bull Johns Hopkins Hosp. 114: 212-229
(1964)
- MOSER, R., H.U. MELLI, LARGIADER: Die Ischämietoleranz des Pankreas
Z. ges. exp. Med. 143: 266-274 (1967)
- MÜLLER, E.: Der Zelltod
in: Büchner u. Mitarb. 1955 ff. 613-679
- NAGEL, W., F. WILLIG: Proteolytische Enzyme im Pankreas unter normalen und pathologischen Bedingungen
Klin. Wschr. 42: 400-402 (1964)
- NEAL, M.P., M.M. ELLIS: Aetiological factor of fat necrosis
5th Med. J. 23: 313-320 (1930)
- NECHELES, LING, FERNANDO 1926: Zit. nach Becker 1973

- NEIDERHISER, D.H., W.A. MORNINGSTAR, H.P. ROTH:
Absorption of lecithine and lysolecithine by the gallbladder
J. Lab. Clin. Med. 82: 891-897 (1973)
- NEMIR, P.: The role of proteinase inhibitor in
aetiology and pathogenesis of acute
necrotizing pancreatitis
3rd world Congress of Gastroenterology
Tokyo 1966: 311-313
- NEMIR, P., V. TACHDJAN, I.G. LLAURODO: Further observations
on the enzymatic digestion of
blood: a clinical study
Surgery 56: 769-774 (1964)
- NICANDER, L.: An electron microscopical study of cell
contacts in the seminiferous tubules
of some mammals
Z. Zellforsch. 83: 375-397 (1966)
- NICKEL, A.N., R. SCHUMMER, E. SEIFERLE: Lehrbuch der Anatomie
der Haustiere Bd. II.
Berlin, Hamburg (1960)
- OBERNDORFER, S.: Männliche Geschlechtsorgane
in: Henke u. Mitarb. 1924 ff. Bd. 5/3
Berlin 1931
- OFSTAD, E.: Formation and destruction of plasmin
kinins during experimental hemorrhagic
pancreatitis in dogs
Scand. J. Gastroenterol. 5: suppl. 5:
1-44 (1970)
- OFSTAD, E., E. AMUNDSEN, P.O. HAGEN: Experimental acute
pancreatitis in dogs. II. Histamine
release induced by pancreatic exudate
Scand. J. Gastroenterol. 4: 75-79 (1969)
- OPIE, E.L.: The aetiology of acute hemorrhagic
pancreatitis
Bull. Johns Hopkins 12: 182-184 (1901)

- PAPP, M., G. UNGVARI, E.P. NEMETH: The effect of bile-induced pancreatitis on the intra-pancreatic vascular pattern in dogs
Scand. J. Gastroenterol. 4: 681-698 (1969)
- PAPP, M., E.P. NEMETH, J. HORVATH: Pancreaticoduodenal lymph flow and lipase activity in acute experimental pancreatitis
Lymphology 4: 48-53 (1971 a)
- PAPP, M., Z. NAGY, J. FODOR: Ultrastructure of the pancreatic acinar parenchyma in acute experimental pancreatitis of the pigeon
Acta morph. Acad. Sci. Hung. 19: 377-387 (1971 b)
- PAPP, M., J.H. BREUER, E.P. NEMETH, I. FODOR, G. FOLLY: Lysolecithine-content of the pancreas in experimental acute pancreatitis
Gastroenterology 65: 778-787 (1973 a)
- PAPP, NEMETH, FEUR, FODOR: zit. nach Becker 1973
- PAULSON, M.: (Hg.) Gastroenterologic Medicine
Philadelphia 1968
- PHILLIPS, G.B.: The lipid-composition of human bile
Biochim. Biophys. Acta 41: 361-363 (1960)
- PHILLIPS, G.B., E. MIDDLETON: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 119: 465 (1965)
- PHILLIPS, G.B., P. BACHNER, D.G. Mc KAY: Tissue effects of lysolecithine injected subcutaneously in mice
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 119: 848-850 (1965)
- PIETERSON, W.A.: Interaction of Phospholipase A and its zymogen with divalent metal ions
Biochemistry (Washington) 13: 1439-1445 (1974)
- PINKERTON, H.: Reaction to oils and fats in lung
Arch. Path. 5: 380-401 (1928)
- PIROLA, R.C., A.E. DAVIES: Effect of pressure on the integrity of the duct-acinar system of the pancreas
GUT 11: 69-73 (1970)

- PIZZECCO, E.: Edema acuta del pancreas. Tentativo di identificazione nosologica in base a descrizioni cliniche
Chir. Path. sper. 8: 1521-1578 (1960)
- POPPER, H.L.: Enzyme studies in edema of the pancreas and acute pancreatitis
Surgery 7: 566-570 (1940)
- POPPER, H.L., H. NECHELES: Edema of the pancreas
Surg. Gyn. Obstetr. 74: 123-124 (1943)
- POPPER, H.L., H. NECHELES, K.C. RUSSEL: Transaction of pancreatic edema into pancreatic necroses
- POSINOVEC, J.: Giant cells in human testis
Acta Med. Jugosl. 27: 455-464
Beograd 1973
- POSTEMA, R.: On pancreatic phospholipase A and its precursor
Groningen 1968
- POULOS, A., J.G. WHITE: The phospholipid composition of human spermatozoa and seminal plasma
J. Reprod. Fert. 35: 265-272 (1973)
- POWERS, J.R., H.H. BROWN, A. STEIN: Pathogenesis of acute and chronic pancreatitis
Ann. Surg. 142: 690-697 (1955)
- RAPOPORT, D.M.: Medizinische Biochemie. 5. Aufl., Berlin 1969
- RAPTIS, J.: Enterohormone und endokrines Pankreas in: Gastroenterologie und Stoffwechsel, Hg. Bartelheimer, Kühn, Becker, Stelzner. Stuttgart 1974
- RIMON, A., B. SHAPIRO: Properties and specificity of pancreatic phospholipase A
Biochem. J. 71: 620-628 (1959)
- RIVENZON, A., V. COMISEL: Sur l'existence de cellules séminales multinucléés dans le testicule du cobaye et du hamster
Arch. Anat. Micr. Morph. Exp. 55: 55-58 (1969)

- ROBERTSON: Lecithinase and lysolecithinase activity in rat tissues
Biochim. Biophys. Acta 116: 379-381 (1966)
- RICHTERICH: 1958: zit. nach Becker 1973
- ROSENTHAL, A.F., S. CHING-HSIEN HAN: A study of phospholipase A inhibition by glycerophosphatide analogues in various systems
Biochim. Biophys. Acta 218: 213-220 (1970)
- ROSSI, C.R., L. SARTORELLI, L. TATO, N. SILIPRANDI: Relationship between oxidative phosphorylation efficiency and phospholipid content in rat liver mitochondria
Arch. Biochem. 107: 170-175 (1964)
- ROTHSCHILD, A.M.: Histamine release by bee venom phospholipase A and mellitine in the rat
Brit. J. Pharmacol. 25: 59-66 (1965)
- RUDOLPH, W.: Über Leberdegeneration infolge Pankreasnekrosen
Dtsch. Arch. klin. Med. (Leipzig) 87: 1-14 (1907)
- SARIS, N.E., A.J. SEPPÄLÄ: Inhibition of phospholipase A induced swelling of mitochondria in the energized state
Acta chem. scand. 24: 3697-3700 (1970)
- SARLES, H., J. SAHEL: Die chronische Pankreatitis in: Handbuch der Inneren Medizin Begr. v. L. Mohr, R. Staehlin, herausgegeben von H. Schwiégk, III. Band, Teil 6, Pankreas, herausgegeben von M.M. Forell.
Berlin, Heidelberg, New York 1976
- SCHEID, W.: Lehrbuch der Neurologie
Stuttgart 1966
- SCHERPHOF, G.L., L.L.M. van DEENEN: Phospholipase A activity of rat liver mitochondria
Biochim. Biophys. Acta 98: 204-206 (1965)

- SCHINZ, H.R., B. SLOTOPOLSKY: Beiträge zur experimentellen Pathologie des Hodens
Denkschr. schweiz. Naturforsch. Ges.
Zürich (1924 a)
- SCHINZ, H.R., B. SLOTOPOLSKY: Experimentelle und histologische Untersuchungsmethoden am Hoden
Dtsch. Z. Chir. 188/1: 76-100 (1924 b)
- SCHLIERF, G., W. KAHLKE: Fettstoffwechsel
in: Klinische Pathophysiologie,
herausgegeben von W. Siegenthaler,
Stuttgart 1973
- SCHMIDT, H., W. CREUTZFELDT, E. HABERMANN: Phospholipase A
- ein möglicherweise entscheidender
Faktor in der Pathogenese der akuten
Pankreatitis
Klin. Wschr. 45: 163-164 (1967)
- SCHMIDT, H.: The possible role of Phospholipase A
in the pathogenesis of acute pancreatitis
Scand. J. Gastroenterol. 4: 39-48 (1969)
- SCHMIDT, H.: Neuere Vorstellungen zur Pathogenese der
akuten Pankreatitis
Internist 11:, 105-110 (1970)
- SCHMIEDEN, SEBENING 1927: zit. nach Becker 1973
- SCHMITZ-MOORMANN, P.: Frühveränderungen bei der experimentellen, partiellen und permanenten
Ischämie des Katzenpankreas
Virchows Arch. Path. Anat. A 348:
249-259 (1967)
- SCHMITZ-MOORMANN, P., U. ZIMMERMANN, E. KREILOS:
Untersuchungen zur temporären partiellen
Ischämie des Katzenpankreas
Verh. dtsh. Ges. Path.: 376-381 (1970)
- SCHÖN, H., N. HENNING: Untersuchungen zur Pathogenese der
sog. tryptischen Pankreatitis
Klin. Wschr. 41: 201-202 (1963 a)
- SCHÖN, H., K. HEINKEL, N. HENNING: Über das Verhalten
von Pankreasenzymen bei der experimentellen
Pankreatitis der Ratte
Klin. Wschr. 41: 612-615 (1963 b)
- SCHÖN, H., N. HENNING: In vitro Untersuchungen zur Pathogenese der sog. tryptischen Pankreatitis
Med. exp. 8: 83-89 (1963 c)

- SCHÖNBACH, G., E.X. SAILER, E. NOESKE: Die Wirkung der Galle auf die Endstrombahn
Med. Welt 18: 445-446 (1967)
- SCOTT, T.W., R.M.C. DAWSON, I.W. ROWLANDS: Phospholipid interrelationships in rat epididymal tissue and spermatozoa
Biochem. J. 87: 507-512 (1963)
- SCOTT, T.W., B.P. SETCHEL: Lipidmetabolism in the testis of ram
Biochem. J. 107: 273-278 (1968)
- SEELIG, R., H.P. SEELIG: The possible role of serum complement system in the formal pathogenesis of acute pancreatitis
1. Immunopathogenic pancreatitis, local Schwartzman-Sanarelli-Phenomen, endotoxin induced pancreatitis
Acta Hepato-Gastroenterologica Vol 22/4: 263-268 (1975 a)
- SEELIG, R., H.P. SEELIG: The possible role of serum complement system in the formal pathogenesis of acute pancreatitis
2. Cobra venom factor pancreatitis-sodium-taurocholate and deoxycholate pancreatitis
Acta Hepato-Gastroenterologica Vol 22/5: 335-346 (1975 a)
- SEELIG, R., V. EHEMANN, C. TSCHAHARGANE, H.P. SEELIG: The serum-complement system - a mediator of acute pancreatitis
Virchows Arch. Path. Anat. 365: 193-199 (1975 c)
- SEELIG, R., H.P. SEELIG: Complement-mediated acinar cell necrosis in pancreatitis induced by basement membrane antibodies
Virchows Arch. Path. Anat. A 371: 69-77 (1976)
- SEIDEL, D.: Plasmalipoproteine-Funktion und Charakterisierung
in: Schettler, G. (Hg.) Fettstoffwechsel Stuttgart 1971
- SETCHELL, B.P.: 1970: In Johnson, A.D., W.R. Gomes, N.L. Vandemark: The Testis.
Acad. Press New York, London 1970
- SHWARTZMAN: 1932: zit. nach Korn, K.J. 1963

- STEIN, Y., O. STEIN: Metabolism of labelled lysolecithine, lysophosphatidylethanolamine and lecithine in the rat
Biochim. Biophys. Acta 116: 95-107 (1966)
- STEINBERG, B.: Systemic nodular panniculitis
Amer. J. Path. 29: 1059-1081 (1953)
- STOFFEL: 1966: zit. nach Siebert, G.: Stoffwechsel und Feinstruktur der Zelle I (1968) in Büchner u. Mitarb. 1955 ff.
- STORCK, G.: Fat necrosis in acute pancreatitis. Morphological and chemical studies in the rat
Acta chir. Scand. suppl. 417 (1971)
- STORCK, G., C.G. HANSSON: Experimental fat necrosis in the rat. A histopathological study
Acta chir. Scand. 138: 165-169 (1972)
- STRACK, R., D.H. DREIZIN, S. KEYTER, E.J. LAZARO: Duodenal reflux in the genesis of acute pancreatitis
Canad. J.Surg. 10: 68-74 (1967)
- STREMMEL, W.: Glukagon zur Behandlung der Pankreatitis
Münchn. Med. Wschr. 116: 69-70 (1974)
- SUM, P.T., S.A. BENCOSME, I.T. BECK: Pathogenesis of bile-induced acute pancreatitis in the dog. Experiments with detergents
Amer. J. dig. Dis. N.S. 15: 637-646 (1970)
- STIEVE, H.: Männliche Genitalorgane (1930) in: W.v. Möllendorf: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Berlin 1929 ff. Band 7/2
- TAMM, J.: Testis in: W. Siegenthaler (Hg.) Klinische Pathophysiologie
Stuttgart 1973
- THAL, A., E.L. BRACKNEY: Acute hemorrhagic pancreatic necrosis produced by a local Schwartzman reaction; experimental study on pancreatitis
J. Amer. Med. Ass. 155: 569-574 (1954)

- THEVE: Fat Necrosis. Studies in rats with experimental induced pancreatitis
Acta Chir. Scand. Suppl. 434 (1972)
- THOMPSON, R.: in: J. Cummings, M. Kremer:
Biochemical aspects of neurological disorders Oxford 1965
- UVNÄS, B.: Mechanism of histamine release in mast cells
Ann. N.Y. Acad. Sci. 103: 278-284 (1963)
- VOGLMAYR, J.K., T.W. SCOTT, B.P. STECHELL, G.M.H. WAITES: Metabolism of testicular spermatozoa
J. Reprod. Fert. 14: 87-99 (1967)
- VOGEL: 1951: zit. nach Becker 1973
- VOGT, W., P. PATZER, L. LEGE, H. OLDIGS, G. WILLE: Synergism between phospholipase A and various peptides in causing hemolysis
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 265: 442-454 (1970)
- WALLACE, J.C., A.K. LASCELLES: Composition of testicular and epididymal lymph in the ram
J. Reprod. Fert. 8: 235-242 (1964)
- WANKE, M.: Pathologico-anatomical results with acute pancreatitis
3rd Worldcongress of Gastroenterology Tokyo 1966: Vol. 4, 335-339, Tokyo 1967
- WANKE, M.: Experimentelle Pankreatitis
Stuttgart (1968 b)
- WANKE, M.: Experimental acute pancreatitis
in: Current Topics in Pathology Vol. 52: 64-142 Berlin (1970)
- WANKE, M., K.H. GRÖZINGER: Organveränderungen bei experimenteller Pankreatitis mit besonderer Berücksichtigung der Leber-Pankreas-Beziehung
Langenbecks Arch. Klin. Chir. 310: 26-52 (1965)

- WANKE, M., W. NAGEL, F. WILLIG: Formen der experimentellen Pankreatitis pathoanatomisch gesehen
Frankf. Z. Path. 75: 207-227 (1966)
- WANKE, M., W. NAGEL, M.M. LINDER, H. SEBENING:
Über die Stellung der Phospholipase A im Ablauf der akuten Pankreatitis
z.f. Gastroenterologie 6: 434-442 (1968 a)
- WANKE, M., W. NAGEL: Degranulierung des exkretorischen Pankreas und autodigestive Pankreatitis
Verh. dtsh. Ges. Path. (1968 c): 311
- WANKE, M., P. GRISS: Metastasierendes Nebennierenrindenkarzinom mit Cushing-Syndrom und lipolytischer Pankreatitis
Morgagni 2: 267 (1969)
- WANKE, M., H. GOEBEL, J. HOTZ, H. KASPER, H. SOMMER, K.H. GRÖZINGER: Akute Pankreaserkrankungen in: Handbuch der Inneren Medizin, Begr. v. L. Mohr, R. Staehlin, herausgegeben von H. Schwiegk; III. Band, Teil 6 Pankreas, herausgegeben von M.M. Forell; Berlin, Heidelberg, New York (1976)
- WELLS, B.B., J.A. HALSTED: Clinical Pathology. Interpretation and Application
Philadelphia, London 1966
- WILKINSON, P.J., D.B. CATER: A study of the effects of lysolecithine on BP8 Ascites tumor cells and phagocytes of mice compared with the effect of a specific anti-tumor serum and complement
J. Path. Edinburgh 97: 219-230 (1969)
- WOELK, H., H. DEBUCH: Die Wirkung von Phospholipase A aus Schlangengift auf Phosphatidylecholin, Phosphatidyläthanolamin und auf die entsprechenden Plasmalogene. Enzymkinetische Untersuchungen
Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. Berlin 352: 1275-1281 (1971)
- WOLMAN, M.: Lipids, 2nd part. Histochemistry of lipids in pathology (1964) in: Handbuch der Histochemie, hgg. v. W. Graumann, K.H. Neumann, Stuttgart 1964

- WU, T.-., D.O. TINKER: Phospholipase A₂ from *Crotalus atrox* venom
I. Purification and some properties
Biochemistry 8: 1558-1568 (1969)
- YAMAGUCHI, T.: Two thermostable phospholipases A in porcine pancreas
J. Biochem. (Tokyo) 73: 187-190 (1973)
- ZBINDEN: Morphologische Äquivalente zur Pharmakokinetik und Pharmakodynamik
Verh. dtsh. Ges. Path.: 29-33 (1972)
- ZELANDER, T., R. EKHOLM, Y. EDLUND: The ultrastructural organization of the rat exocrine pancreas
J. Ultrastruct. Res. 7: 84-101 (1962)
- ZIEVE, L., B. MULFORD: Secretion of pancreatic enzymes
Amer. J. Digest. Diseases 123: 309-312 (1967)
- ZIEVE, L.: Relationship between acute pancreatitis and hyperlipemia
The Medical Clinics of North America
Philadelphia 52 (6): 1493-1496 (1968)
- ZOLLINGER, H.U.: 1948: zit. nach Müller 1955

Ich bin Herrn Prof. Dr. med BECKER, Direktor des Pathologischen Instituts der Universität Erlangen-Nürnberg für die Anregung zu dieser Arbeit, die Möglichkeit, in seinem Institut die Experimente durchzuführen, das Interesse, mit dem er deren Fortgang verfolgte und seine unermüdliche Bereitschaft, mir mit seinem Rat bei dieser Arbeit beizustehen, zu tiefstem Dank verpflichtet.

Die ausgezeichneten histologischen Präparate wurden von Frau Kelber angefertigt. Hierfür sei ihr herzlich gedankt.

Mein Lebenslauf

Ich wurde am 12.11.1951 als Sohn von Dipl.-Ing. Peter S t ö m m e r und seiner Ehefrau Margarete in Passau geboren. Ich besuchte die Volksschule in Hacklberg und trat nach vier Jahren in das ADALBERT-STIFTER-Gymnasium in Passau ein, wo ich 1971 das Abitur bestand.

Nach einem Praktikum im städtischen Krankenhaus in Passau (Prof. Dr. SCHEDEL) immatrikulierte ich mich im Wintersemester 1971 an der Universität Erlangen-Nürnberg für das Fach Medizin und schloße hier auch mein Studium mit der Approbation im November 1977 ab.

Um den sozialen Aspekt der Medizin kennenzulernen, famulierte ich am Gesundheitsamt in Passau (Med. Dir. Dr. FEXER). Hier gewann ich vor allem Einblick in die Praxis der Tuberkulose-Fürsorge und die ärztlichen Aufgaben in der Betreuung und Nachsorge von Suchtkranken und psychiatrischen Patienten. Eine zweite Famulatur machte ich in der kardiologischen Rehabilitationsklinik Hochstauffen (Priv.Do. Dr. med. habil. BERGHOFF) in Reichenhall. Dort lernte ich vor allem

kardiologische Untersuchungsmethoden wie EKG, Herzkatheter und Belastungsprüfungen kennen.

Durch eine Hilfsassistentenstelle im Pathologischen Institut in Erlangen (Prof. Dr. BECKER) wurde mein Interesse an der morphologischen Erscheinung der Krankheit vertieft. Mein Berufsziel ist es deshalb, Pathologe zu werden.

